FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1923 **THÈSE** N° 2

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Georges SCHAEFFER
Né à Paris le 26 Septembre 1882

ÉTUDE DES VARIATIONS BIOCHIMIQUES

DU RAPPORT NUCLÉO-PLASMATIQUE

AU COURS DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

APPLICATIONS BIOLOGIQUES

Président : M. MAURICE NICLOUX, *Professeur*

PARIS
TYPOGRAPHIE PHILIPPE RENOUARD
19, RUE DES SAINTS-PÈRES, 19

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Année 1923

THÈSE

N° 2

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

PAR

Georges SCHAEFFER

Né à Paris le 26 Septembre 1882

ÉTUDE DES VARIATIONS BIOCHIMIQUES

DU RAPPORT NUCLÉO-PLASMATIQUE

AU COURS DU DÉVELOPPEMENT EMBRYONNAIRE

APPLICATIONS BIOLOGIQUES

Président : M. MAURICE NICLOUX, *Professeur*

PARIS

TYPOGRAPHIE PHILIPPE RENOUARD

19, RUE DES SAINTS-PÈRES, 19

—

1923

FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Doyen	MM.	WEISS O. ✻ ✪ I.
Assesseur		BOUIN ✻ ✪ I.

Professeurs

Embryologie	MM.	ANCEL ✻ ✪ I.
Anatomie		FORSTER ✪ A.
Histologie		BOUIN ✻ ✪ I.
Physiologie		N...
Physique biologique		WEISS O. ✻ ✪ I.
Chimie biologique		NICLOUX ✪ I.
Anatomie pathologique		MASSON ✪ A.
Pharmacologie, Médecine expérimentale		AMBARD ✪ A.
Hygiène, Bactériologie		BORREL O. ✻ ✪ I.
Médecine légale		CHAVIGNY O. ✻ ✪ I.
Clinique médicale		BARD O. ✻ ✪ I. BLUM Léon ✻ ✪ A.
Clinique chirurgicale		SENCERT O. ✻ ✪ I. STOLZ ✻ ✪ A.
Clinique ophtalmologique		DUVERGER ✪ A.
Clinique dermatologique		PAUTRIER ✻ ✪ A.
Clinique psychiatrique		PFERSDORFF ✪ A.
Clinique neurologique		BARRÉ ✻ ✪ A.
Clinique oto-rhinolaryngologique		N...
Clinique gynécologique et accouchement		SCHICKELÉ ✪ A.

Chargés de Cours

MM. ARON Max ✪ A.
BELLOCQ ✪ A.
BLUM Paul ✻ ✪ I.
CANUYT.
GELMA ✪ A.
GÉRY ✪ A.
BOEZ (Méd. argent épidémies).
GUNSETT ✪ A.
HANNS ✻ ✪ A.
HUGEL ✪ A.
KELLER ✪ A.
LICKTEIG ✪ A.
WEILL ✪ A.
REEB ✪ A.
ROHMER ✪ A.
SCHAEFFER ✪ A.
SCHWARTZ ✪ A.
STROHL, agrégé ✪ A.
VAUCHER ✪ A.
FONTES.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A LA MÉMOIRE

DE MON MAITRE

ALBERT DASTRE

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA SORBONNE

PUBLICATIONS (1906-1919)

DE

GEORGES SCHAEFFER

CHARGÉ DE COURS DE PHYSIOLOGIE

1906

Le mode d'action des purgatifs salins d'après les travaux de J.-B. Mac Callum. *Biologie Médicale*, sept.-octobre 1906.

La physiologie de l'appareil thyro-parathyroïdien, d'après les travaux récents. *Biologie Médicale*, n° 1, p. 1, 1906.

Notes sur les principaux procédés de recherche et de dosage des pigments biliaires dans l'urine humaine. *Biologie Médicale*, mars 1906.

1907

Dialyse et filtration sur sac de collodion de la lactase et de l'émulsine animales. *C. R. Soc. Biologie*, t. XLII, p. 723, avril 1907, en collaboration avec H. Bierry.

Néphro et Hépatotoxines. I. Sur les conditions de préparation des sérums néphro et hépatotoxiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. XLIII, p. 496. II. Sur l'action des sérums néphro- et hépatotoxiques. *C. R. Biol.*, t. XLIII, p. 566, en collaboration avec Auguste Petit et H. Bierry.

Influence de la réaction du milieu sur la grandeur des granules colloïdaux. *C. R. Académie des Sciences*, 25 novembre 1907, t. CXLV, p. 918, en collaboration avec A. Mayer et E. Terroine.

1908

Recherches physicochimiques sur les savons considérés comme colloïdes. *C. R. Acad. Sciences*, 2 mars 1908, en collaboration avec A. Mayer et E. Terroine.

Recherche sur les savons considérés comme colloïdes. Caractères colloïdaux dans la série des savons. *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, p. 356, en collaboration avec A. Mayer et E. Terroine.

Sur la réalisation in vivo et in vitro de précipitines pour l'ovalbumine à partir d'antigènes chimiquement définis. *C. R. Académie Sciences*, 3 août 1908, en collaboration avec A. MAYER.

Dispositif pour filtration à travers les membranes. *C. R. Soc. Biologie*, t. LXIV, p. 318, en collaboration avec A. MAYER et E. TERROINE.

Sur la structure ultra-microscopique des empois d'amidon et de leurs constituants. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXIV, p. 599, en collaboration avec A. MAYER et M^me^ GATIN-GRUZEWSKA.

Sur la structure des gels. Application à l'étude de la constitution du protoplasma animal et des liquides de l'organisme. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXIV, p. 681, en collaboration avec A. MAYER.

Lésions du foie et du rein produites par injection d'acides gras, de savons, d'éthers. *C. R. Soc. Biologie*, t. LXV, p. 210, en collaboration avec A. MAYER et F. RATHERY.

1909

Contribution à l'étude des acidalbumines, particulièrement des acidalbumines d'acides gras. *Archivio di Fisiologia*, vol. VII, 1909 (Volume jubilaire du Prof. G. FANO), en collaboration avec A. MAYER.

La choline. Étude physiologique et chimique de cette substance. *Biologie Médicale*, octobre 1909.

Lésions expérimentales des cellules du foie. *C. R. de la Soc. de Biologie*, t. LXVII, p. 709, en collaboration avec A. MAYER et F. RATHERY.

Sur la constitution et le rôle des mitochondries. *C. R. Soc. de Biologie*, t. LXVI, p. 921, en collaboration avec FAURÉ-FRÉMIET et A. MAYER.

1910

L'acidose et le mode de formation des corps acétoniques dans l'organisme. *Archives de Médecine expérimentale*, t. XXII, n° 4.

Les ferments protéolytiques du suc pancréatique. Trypsine et érepsine. *Journal de Physiologie et Pathologie générale*, n° 6, novembre 1910, t. I, p. 884-890, et t. II, p. 905-919, en collaboration avec E. TERROINE.

Sur les réactions chimiques des mitochondries. *C. R. Soc. Biologie*, t. LXVII, p. 769, en collaboration avec FAURÉ-FRÉMIET et A. MAYER.

Sur la microchimie des corps gras. Application à l'étude des mitochondries. *Archives d'Anatomie microscopique*, t. XII, fasc. I, p. 19-102, en collaboration avec FAURÉ-FRÉMIET et A. MAYER.

Microchimie des éléments mitochondriaux du Myocarde. *Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes. — Douzième Réunion*, Bruxelles, 1910, p. 70-75, en collaboration avec FAURÉ-FRÉMIET et A. MAYER.

Sur la microchimie des corps gras. *Anatomischer Anzeiger*, t. XXXVI, p. 596-598, 1910, en collaboration avec FAURÉ-FRÉMIET et A. MAYER.

Sur les propriétés des granulations ou mitochondries de la cellule hépatique normale. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 407, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

Lésions expérimentales de la cellule hépatique. *Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique*, 22e année, nº 2, mars 1910, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

Sur les réactions microchimiques des corps gras et la réaction de Gramm. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 353, en collaboration avec M. Guerbet et A. Mayer.

Réaction des cellules hépatiques à diverses substances organiques. *C. R. des Séances de la Soc. de Biologie*, t. LXVIII, p. 520, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

Sur l'aspect et les variations des granulations ou mitochondries de la cellule hépatique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 427, en collaboration avec André Mayer et F. Rathery.

Appareil à contention pour lapins. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXVIII, p. 948, en collaboration avec A. Mayer.

1911

Recherches sur les hémolysines. I. Sur la spécificité des hémolysines naturelles. II. Sur la spécificité des hémolysines acquises. *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, juillet 1911 (fasc. 4), p. 527-541 et 553-564, en collaboration avec A. Mayer.

1912

Dosage de la cholestérine par les méthodes de Kumagawa-Suto et de Windaus combinées. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXII, p. 382, en collaboration avec A. Mayer.

Culture du Bacille de Koch en milieu chimiquement défini. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLIV, p. 537, en collaboration avec Armand Delille, Mayer et Terroine.

Composition chimique du sang et hémolyse. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLV, p. 728, en collaboration avec A. Mayer.

Contribution à la microchimie des surrénales. I. Recherches sur les surrénales du cheval. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, p. 313. II. Recherches sur les surrénales du mouton. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, p. 315, en collaboration avec P. Mulon et A. Mayer.

Sur le protoplasme de la cellule hépatique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIII, p. 307, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

1913

Culture du Bacille de Koch en milieu chimiquement défini. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 272, en collaboration avec Armand Delille, Mayer et Terroine.

Valeur de quelques méthodes histologiques pour la fixation des corps gras. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 241, en collaboration avec Mayer et Rathery.

La composition des tissus en acides gras non volatils et en cholestérine, et l'existence possible d'une constante lipocytique. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLVII, p. 487, février 1913, en collaboration avec A. Mayer.

L'eau d'imbibition des tissus. Constance pour un même organe. Inégalité de répartition dans un même organisme. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 750, en collaboration avec A. Mayer.

Une hypothèse de travail sur le rôle physiologique des mitochondries. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXIV, p. 1384, en collaboration avec A. Mayer.

Coefficients lipocytiques et imbibition des cellules vivantes par l'eau. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLVI, p. 1253, en collaboration avec A. Mayer.

Action des fixateurs chromo-osmiques sur les lipoïdes des tissus. I. Action hydrolysante. II. Action oxydante. III. Action insolubilisante. IV. Action sur la colorabilité. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 136-214, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

Recherches sur la constance lipocytique. Teneur des tissus en lipoïdes phosphorés. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLVII, p. 156, en collaboration avec A. Mayer.

Action de quelques fixateurs des cellules nerveuses sur la composition chimique du tissu. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXV, p. 560, en collaboration avec Jacques Mawas et A. Mayer.

Contribution à la biochimie des micro-organismes. Le bacille tuberculeux ; culture en milieu chimiquement défini. Nutrition azotée. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XV, p. 797-811, en collaboration avec Armand Delille, Mayer et Terroine.

Le métabolisme des graisses et les travaux de Leathes. *Archives de Médecine expérimentale et d'Anatomie pathologique*, t. XXV, p. 503-522.

Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes, existence possible d'une constance lipocytique. I. Introduction et technique. II. Résultats expérimentaux. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XV, n° 3, p. 510-524 et 534-548, en collaboration avec A. Mayer.

Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoïdes. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XV, p. 773-788, en collaboration avec A. Mayer.

Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Teneur en lipoïdes des globules et du sérum sanguin. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XV, n° 5, p. 984-998, en collaboration avec A. Mayer.

1914

Sur les variations expérimentales du chondriome hépatique. Parallélisme entre la composition chimique du tissu et ses aspects cytologiques. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXVI, p. 398, en collaboration avec F. Rathery et A. Mayer.

La formation du foie gras au cours du gavage de l'oie. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXVI, p. 494, en collaboration avec A. Mayer, Rathery et Terroine.

Teneur des tissus en lipoïdes et activité physiologique des cellules. Cas de la régulation thermique. *C. R. Acad. des Sciences*, t. CLVIII, p. 365, en collaboration avec A. Mayer.

Recherches sur les variations des équilibres cellulaires. Variations de la teneur des tissus en lipoïdes et en eau au cours de l'inanition absolue. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XVI, p. 203-211, en collaboration avec A. Mayer.

Recherches sur les constantes cellulaires. Teneur des cellules en eau. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XVI, p. 1-38, en collaboration avec A. Mayer.

Variations de la teneur en lipoïdes et activité physiologique des tissus. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XVI, p. 326-359, en collaboration avec A. Mayer.

Un problème de physiologie générale. Le Béribéri et les Vitamines de Funck. *Biologica*, n° 40, avril 1914, p. 108.

Les granulations ou mitochondries de la cellule hépatique. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XVI, p. 581-597 et 607-622, en collaboration avec A. Mayer et F. Rathery.

Constance de la concentration des organismes entiers en lipoïdes phosphorés : concentration en lipoïdes au cours de la croissance. Application à la biométrique. *C. R. Acad. Sciences*, t. CLIX, p. 102, en collaboration avec A. Mayer.

1917

Les problèmes soulevés par la Statique de l'Eau chez les mammifères. *Bulletin de la Société d'Hygiène alimentaire*, vol. V, n° 4, p. 197-220.

1918

Les travaux récents sur les besoins qualitatifs d'azote chez les Mammifères et les Vitamines. *Bulletin de la Société d'Hygiène alimentaire*, vol. VI, n^{os} 5 et 6, et réimpression, 1 brochure de 72 p.

1919

Facteurs accessoires de la croissance et de l'équilibre; Vitamines; Auximones. *Bulletin de l'Institut Pasteur*, t. XVII, nos 1 et 2, p. 1-21 et 41-59.

La notion de carence dans l'interprétation des résultats des recherches sur l'alimentation artificielle et la vie aseptique. A propos de la note de MM. M. Weill et Mouriquand. *C. R. Soc. Biol.*, 9 janvier 1918.

Extension au cas des microbes de la notion d'acides animés indispensables. Rôle de l'arginine et de l'histidine dans la culture du bacille de Koch sur milieux chimiquement définis. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, p. 113, en collaboration avec A. Mayer.

L'état fonctionnel du rein comparé à son aspect histologique et à sa composition chimique. *C. R. Soc. Biol.*, t. LXXXII, p. 1336, en collaboration avec L. Ambard, A. Mayer et F. Rathery.

Traductions :

Jacques Loeb. La dynamique des phénomènes de la vie. Alcan, éditeur, 1908, avec préface d'Alfred Giard.

Arthur Harden. La fermentation alcoolique. Collection de monographies biologiques, 1 vol., Hermann, éditeur, Paris.

INTRODUCTION

Le présent travail a été fait en collaboration avec Eliane Le Breton et paraît ailleurs sous nos deux noms. Cette collaboration s'étend aussi bien à la conception qu'à la réalisation expérimentale, et nos apports y sont égaux.

Cette thèse a dû être détachée d'un ensemble dont toutes les parties ne sont pas terminées; c'est ce qui donne parfois un caractère un peu artificiel à son mode de présentation. Il reste cependant facile de voir la tendance générale de ces recherches qui appartiennent sans conteste à la Physiologie générale. Dans notre esprit, elles doivent montrer le secours qu'apportent à la Physiologie cellulaire, la cytomécanique et la mécanique du développement. Ces deux Sciences formulent des lois que le physiologiste ignore souvent, bien qu'elles l'intéressent au même titre que le morphologiste. Pour le plus grand dommage de la Biologie tout entière, les liens profonds unissant ces différentes disciplines se sont trouvés rompus par le développement considérable de la Physiologie de fonctions. Cette opinion ne nous est pas personnelle : l'œuvre de Jacques Loeb montre assez que c'est celle d'un des représentants les plus qualifiés de la Physiologie générale moderne.

Si notre travail est physiologique dans son esprit comme dans son but, il est biochimique dans ses moyens. C'est presque exclusivement à la technique chimique qu'on a fait appel dans la partie expérimentale de ces recherches. Ceci ne correspond chez nous à aucune tendance d'esprit qui nous fasse accorder aux

méthodes chimiques la prééminence sur les autres ; nous les avons mises au service de la physiologie parce qu'elles nous paraissaient seules adaptées à la réalisation de nos recherches actuelles.

La lecture du premier chapitre de ce travail montrera quel est notre but lointain : la détermination de la masse protoplasmique active. On verra comment pour y parvenir nous avons été conduits à étudier dans le détail le rapport nucléoplasmatique des morphologistes : c'est-à-dire le rapport du volume du noyau au volume du protoplasme. Dans le second chapitre nous avons essayé de dégager, parmi les nombreux travaux des morphologistes, ceux qui nous semblaient propres à faire comprendre et l'importance de ce rapport et la fécondité d'une étude systématique de ses variations. Dans les derniers chapitres nous montrerons comment, en exprimant le rapport nucléoplasmique non plus en fonction des *volumes* mais des *masses*, nous avons pu répondre à des questions que la morphologie n'avait fait que poser, et aborder de nouveaux problèmes.

Sans nous étendre, disons que ces problèmes ne sont pas exclusivement physiologiques.

Nous pensons qu'à brève échéance, la détermination biochimique du rapport nucléoplasmatique doit éclairer tout un chapitre de l'Anatomie pathologique et notamment l'étude des néoplasmes.

Avec les méthodes dont ils disposent, les histologistes ont déjà recherché ce que devient ce rapport dans les tumeurs où les cellules reprennent la propriété de se diviser activement ; ils se demandaient si cette propriété n'était pas liée à une valeur anormale de la « Kernplasma-relation ». Leurs méthodes n'étant pas adaptées à cet objet d'étude, leurs tentatives ne se sont pas montrées fructueuses.

Nos recherches préliminaires sur ce point nous permettent de penser qu'en établissant le quotient plasmaticonucléaire en fonction de constituants du noyau et du protoplasme judicieusement

choisis, on doit arriver à une classification des tumeurs basée sur la valeur de ce rapport. Mieux encore : en déterminant cette valeur à l'aide de microméthodes sur des fragments de néoplasmes recueillis par biopsie, on doit pouvoir suivre quantitativement leur évolution sous l'action des traitements radio ou curiethérapiques.

L'utilisation éventuelle du rapport nucléoplasmatique à l'étude des tumeurs justifierait à elle seule des travaux étendus sur ce sujet. Mais par ailleurs nous devons considérer la relation nucléoplasmatique comme d'importance primordiale si l'intérêt d'un problème se mesure à la multiplicité des questions qu'il soulève, à la variété des chapitres de la Biologie qu'il intéresse.

Le travail dans lequel nous sommes engagés nous a demandé des efforts soutenus dans des voies fort différentes, mais la tâche nous fut grandement facilitée grâce à l'atmosphère de sympathie active dans laquelle nous avons pu travailler à la *Faculté de Médecine de Strasbourg*.

Nos expériences ont été commencées à l'Institut de Médecine expérimentale chez notre ami le professeur Ambard, qui mit à notre disposition les ressources de son laboratoire pendant que se poursuivait la reconstruction de l'Institut de Physiologie. Son amitié a toujours été pour nous une aide précieuse et nous ne saurions oublier tout ce que nous lui devons.

Ce travail a été continué ultérieurement à l'Institut de Physiologie dans les meilleures conditions, grâce à la large hospitalité que nous y a donnée notre ami André Mayer, professeur au Collège de France.

Les dépenses entraînées par ces coûteuses recherches ont été couvertes pour une grande part à l'aide du legs Bouchard qui nous fut accordé en 1920 par la *Société de Biologie de Paris*.

Notre président de thèse et ami, le professeur Nicloux, membre correspondant de l'Académie de Médecine, nous a manifesté en de nombreuses occasions les preuves multiples de sa bienveillance; nous lui devons des remerciements spéciaux pour

les microanalyses élémentaires qu'il a bien voulu faire exécuter dans son laboratoire, et qui nous étaient nécessaires pour la mise au point de nos méthodes analytiques.

Messieurs les professeurs Bouin et Blum, en manifestant à maintes reprises l'intérêt qu'ils prenaient à nos recherches, nous ont apporté un encouragement précieux dont nous leur sommes reconnaissants.

Nous voudrions remercier ici MM. les Professeurs de la Faculté de Médecine auprès desquels nous avons toujours trouvé l'appui le plus cordial et qui ont facilité notre tâche en mettant à notre disposition les moyens de travail ou de documentation dont nous pouvions avoir besoin.

Enfin nous remercions tout spécialement M. le professeur G. Weiss, membre de l'Académie de Médecine, doyen de la Faculté, pour les nombreuses marques de bienveillance qu'il nous a toujours données, et nous sommes heureux de lui témoigner notre reconnaissance pour l'accueil que nous avons trouvé près de lui.

CHAPITRE PREMIER

LA DÉTERMINATION DE LA MASSE PROTOPLASMIQUE ACTIVE SON IMPORTANCE, TENTATIVES DE DÉTERMINATION

Un des problèmes les plus importants posés à la physiologie moderne est celui de la détermination de la *masse protoplasmique active*.

Avec une conscience plus ou moins nette de sa signification, sans le reconnaître toujours sous les multiples aspects qu'il prend, tous les biologistes s'y heurtent. Le pharmacologiste qui détermine la dose mortelle d'un poison en la rapportant au *kilogramme de poids vif*, le physiologiste qui veut établir les lois de variations du poids d'un organe en fonction du *poids du corps*, le chimiste qui dose les éléments contenus dans *100 grammes de tissu frais ou sec*, tous ont senti le caractère arbitraire des unités choisies, et la nécessité de se mettre enfin d'accord sur un élément représentatif de la masse protoplasmique active.

Nous voudrions exposer dans ce premier chapitre quelques-uns des faits anciens ou récents qui ont fait naître cette notion, retracer les phases par lesquelles elle a passé, définir sa signification actuelle. Nous serons ainsi conduits à montrer quels procédés indirects on peut employer pour évaluer la masse active et les tentatives que nous avons faites pour résoudre cette question.

Si l'exposé qui va suivre paraît long, nous pouvons en justifier l'étendue : les idées et les faits y sont systématisés d'une

façon qui nous est personnelle, il constitue la préface naturelle des recherches relatées ici même et d'un ensemble dont elles se trouvent artificiellement détachées pour des raisons fortuites. Sans ce chapitre, on pourrait perdre de vue que l'évaluation de la masse protoplasmique active reste le but lointain à atteindre, et croire que la détermination biochimique du quotient nucléoplasmatique dont il est traité dans ce travail est considérée par nous comme une fin.

On verra par quelle suite de considérations nous avons été amenés à penser que la détermination de l'indice nucléoplasmique éclairerait le problème de la masse active.

Si nous nous sommes longuement attardés à l'étude de ce rapport, c'est en raison de l'intérêt qu'il nous a paru présenter tant du point de vue de la physiologie générale que des applications qu'on en peut faire en biologie et en médecine.

Si, comme nous l'avons dit, toute la Physiologie est intéressée à une détermination exacte de la masse protoplasmique active, c'est la Bioénergétique qui doit tirer de cette évaluation le bénéfice le plus immédiat. C'est à l'histoire de cette science que nous allons emprunter les faits les plus propres à faire comprendre : 1° ce qu'est la masse active protoplasmique; 2° l'impossibilité où nous sommes d'ajourner plus longtemps les essais de détermination de cette masse.

En comparant les productions de chaleur d'animaux de mêmes espèces ou d'espèces différentes, mais de taille inégale, on fut dès le début de la calorimétrie dans l'obligation de choisir une unité de comparaison à laquelle on put rapporter les quantités trouvées. A l'origine, ces quantités de chaleur exprimées en calories furent ramenées au kilogramme de substance vivante. Les expériences faites amenèrent à conclure que plus un animal était petit plus les quantités de chaleur produite par kilogramme étaient grandes.

Exprimée sous cette forme cette constatation ne satisfit pas les esprits car elle ne s'expliquait pas directement par une loi

physique. Le choix de cette unité de matière vivante fut rapidement considéré comme infécond, et les physiologistes l'abandonnèrent.

Les expériences récentes faites par Bénédict (9)[1] avec des méthodes perfectionnées justifient cet abandon. Cet auteur montre qu'en comparant les productions de chaleur, dans les conditions où l'on se place pour la détermination du métabolisme basal, on observe des différences énormes entre des individus normaux de même espèce, même sexe, même âge, et pouvant atteindre 60 p. 100 pour des hommes de musculatures inégales, 80 p. 100 pour les femmes, 40 p. 100 pour les enfants.

Ces chiffres sont significatifs de la valeur qu'on peut accorder au kilogramme de poids vif pris comme unité de substance vivante.

A la suite des travaux de Bergmann (11) (1848), Rameaux, Immermann (1865), Liebermeister (1875), Rubner (1883), Richet (1885), on fut conduit, en approfondissant le mécanisme de la régulation thermique chez les homéothermes, à rapporter les quantités de chaleur produite non plus au kilogramme d'animal mais au mètre carré de surface cutanée. On s'aperçut alors que les différences qui séparaient les animaux de tailles différentes dans le précédent mode de calcul tendaient à disparaître : la loi des surfaces était trouvée. Cette loi nous enseignait que les quantités de chaleur produites par mètre carré de surface corporelle étaient les mêmes chez tous les homéothermes et que, dans une même espèce, les quantités de chaleur produites ramenées au mètre carré de surface étaient indépendantes de la taille.

Ces faits ressortent clairement de la considération des tableaux I et II annexés au texte, et que nous nous excusons de reproduire ici puisqu'ils sont, comme ceux de Richet pour le lapin, considérés comme classiques.

1. Les numéros entre parenthèses qui suivent les noms d'auteur renvoient à la bibliographie placée à la fin de ce travail.

TABLEAU I (d'après Erwin-Voit)

ANIMAL.	POIDS en kilogrammes.	CALORIES PRODUITES par kilogr.	CALORIES PRODUITES par mètre carré de surface.
Cheval	441	11,3	948
Porc	128	19,1	1 078
Homme	64,3	32,1	1 042
Chien	15,2	51,5	1 039
Lapin	2,3	75,1	776
Oie	3,5	66,7	969
Poule	2	71,0	943
Souris	0,018	212	1 188

TABLEAU II (d'après M. Rübner)

POIDS DES SUJETS (homme) en kilogrammes.	CALORIES par kilogramme et par jour.	CALORIES par mètre carré et par jour.
(Enfant) 4,03	91,3	1 221
11,08	81,5	1 343
16,40	73,9	1 579
23,70	59,5	1 389
40,40	52,1	1 452
67	42,4	1 399

La lecture de ces chiffres ne donne évidemment pas l'impression que la loi des surfaces soit d'une grande rigueur puisque les écarts entre le lapin et la souris restent de 50 p. 100 en plus pour ce dernier animal, et qu'à l'intérieur d'une même espèce (homme) l'écart entre les chiffres extrêmes est de 29 p. 100[1].

1. On ne peut s'attendre à trouver ici un exposé complet de la loi des surfaces, de sa signification, des critiques qui lui ont été faites. Un tel exposé serait hors de notre sujet; on le trouvera dans les traités spéciaux : Lefèvre, Lusk, Armsby, etc.

Telle qu'elle était exprimée, cette loi avait un grand intérêt théorique car elle se présentait comme une conséquence de la loi de Newton ; son intérêt pratique n'était pas moindre, puisque grâce à un calcul fort simple elle permettait de prévoir les besoins énergétiques des animaux indépendamment de leur espèce ; il suffisait pour cela d'avoir une formule exprimant la surface en fonction de données faciles à obtenir.

La formule de Meeh (1879) fut de beaucoup la plus employée : la surface S y est exprimée en fonction du poids du corps P, et d'une constante K déterminée pour chaque espèce animale. Cette formule est la suivante :

$$S = K\sqrt[3]{P^2}; \quad K = 12{,}3 \text{ pour l'homme.}$$

En appliquant cette formule, les physiologistes ne tardèrent pas à s'apercevoir qu'elle donnait des écarts notables, même quand on l'appliquait à des individus de même espèce. Les écarts observés furent attribués à la formule de Meeh. D'autres furent proposées : celles de Lissauer, de Miwa et Stöltzner (1898) ; mais ces formules ne furent jamais d'un emploi très général.

Des travaux récents de Bénédict (9) et de ses collaborateurs, il résulte qu'en rapportant les quantités de chaleur produites au mètre carré de surface[1], on trouve des écarts considérables à l'intérieur de l'espèce humaine. Ces écarts atteignent 40 p. 100 si on compare des hommes normaux de statures différentes, 43 p. 100 quand il s'agit des femmes, et vont jusqu'à 80 p. 100 quand on compare des enfants normaux à des enfants atrophiques. Bénédict conclut à juste titre « qu'on ne peut considérer comme une loi physiologique celle qui donne des écarts de cet ordre ». Cette loi, qui semblait se vérifier dans les grandes lignes, échoue quand il s'agit de donner une représentation très exacte des faits.

A la suite de ces critiques sévères, les frères Du Bois (1915-1916) montrèrent les erreurs considérables qu'entraîne

1. En se plaçant dans les conditions requises pour la détermination du métabolisme basal.

l'utilisation de la formule de Meeh pour l'évaluation de la surface corporelle : erreur moyenne de 16 p. 100, pouvant atteindre 36 p. 100 chez les sujets gras[1]. Ils déterminèrent expérimentalement, et par une méthode ingénieuse, la surface réelle du corps de l'homme et aboutirent à des formules beaucoup plus satisfaisantes. Nous ne citerons que celle qui se montra la plus pratique et qui est actuellement la plus employée :

$$S = P^{0,425} \times H^{0,725} \times 71,84$$

P = le poids; H = la hauteur; 71,84 = constante pour l'homme

Cette formule donne des erreurs maximales de 1,7 p. 100 dans la détermination des surfaces. Si, en l'utilisant, on trouve encore des écarts en comparant les productions de chaleur par mètre carré, ces écarts ne pourront être attribués qu'à la loi des surfaces elle-même.

La lecture du tableau III montre :

1° Que les productions de chaleur par mètre carré de surface sont plus élevées quand on applique la formule de Du Bois.

2° Que les écarts restent les mêmes entre individus d'une même espèce en dépit d'une exactitude plus grande dans l'évaluation des surfaces corporelles (50 p. 100 en plus pour les jeunes garçons comparés aux femmes, et ce sont des moyennes !).

TABLEAU III

SUJETS.	AGE en années.	CALORIES PAR HEURE et mètre carré.	
		par formule de Meeh.	par formule de Du Bois.
Jeunes garçons	12-13	45,7	49,9
Hommes	20-50	34,7	39,7
Femmes.	20-50	32,3	36,9
Hommes	50-60	30,8	35,2
Femmes.	50-60	28,7	32,7
Hommes	77-83	»	35,1

1. D. et F. Du Bois, *Arch. of Intern. Medicine*, t. XV, p. 868 (1915).

En conclusion, ni la surface ni le poids ne peuvent servir d'unité représentative de la substance vivante ; si la loi des surfaces s'est vérifiée dans un grand nombre de cas, il faut chercher les raisons de cette coïncidence ailleurs que dans un rapport de causalité. Cette opinion est clairement explicitée par Bénédict (9), dans les lignes suivantes : « Qu'il y ait chez les individus normaux un *rapport grossier* entre le métabolisme basal et la surface du corps, il ne faut pas s'en étonner ; les recherches récentes sur la croissance éclairent l'origine de ce rapport. Si le volume du sang, l'aire de la surface de section de la trachée et de l'aorte sont, comme on l'a montré, en relation mathématique simple avec le poids total du corps chez les individus normaux (relation exprimée par $\sqrt[3]{P^2}$), il n'est pas invraisemblable que la masse protoplasmique active du corps, — c'est-à-dire la masse de substance produisant la chaleur, — aussi bien que la surface, soient liées au poids du corps par cette même relation mathématique. D'autre part, si la production de chaleur est proportionnelle à $\sqrt[3]{P^2}$, *cela n'est pas dû au fait que l'aire de surface détermine la thermolyse, mais que la masse protoplasmique active, — liée au poids par le même rapport, — détermine la thermogénèse.*

Il est donc clair que, même avec des individus normaux, il n'existe pas de relation entre la surface du corps et la production de chaleur qui puisse être exprimée avec quelque exactitude mathématique. »

La conclusion à laquelle F.-G. Bénédict et ses collaborateurs sont arrivés, c'est que nous n'avons pas d'unité à laquelle nous puissions ramener la grandeur des échanges[1]. L'idée ancienne de Carl Voit, à savoir que *la grandeur du métabolisme est déterminée par la masse protoplasmique active*, reprend, du fait de ces

1. Moulton (123) s'est efforcé de trouver une unité à laquelle on puisse ramener l'intensité des échanges. Il conclut de ses recherches que l'azote total du corps (représentant d'après lui le protop lasme) ou le poids du sang ne fournissent pas d'unités meilleures que la surface. Ceci semble prouver que les unités choisies par lui pas plus que la surface ne sont une expression fidèle de la masse protoplasmique active.

travaux récents, la place qu'elle n'aurait jamais dû perdre dans la science.

En partant de considérations différentes de celles de Bénédict, Pfaundler (134) est arrivé récemment à des conclusions analogues. Pour lui, la loi des surfaces se trouve faussée parce que le poids du corps qui est pris en considération dans la formule n'est pas représentatif de la masse active; il est la somme du protoplasme actif et de substances dont le rôle dans le métabolisme est, sinon nul, du moins d'importance relative. A la lecture des travaux de Bénédict, il semble bien que la correction qu'il veut faire subir au poids du corps porte uniquement sur les matériaux de réserve, notamment les graisses. Pfaundler a de cette correction à faire une autre conception. Il prend en considération des faits morphologiques trop négligés par les physiologistes et sur lesquels Rübner, et surtout Friedenthal (59) ont attiré l'attention : c'est la surcharge progressive, avec l'âge, du protoplasme de toutes les cellules en éléments différenciés que Friedenthal appelle *paraplasme*. Il faut laisser aux morphologistes la paternité de cette distinction féconde entre le protoplasme et le paraplasme, distinction à laquelle Ch.-S. Minot (118) accorde une telle valeur qu'il définit l'âge d'un organisme par la proportion d'éléments différenciés qu'il renferme.

Sans aucun doute, le mot de paraplasme fera sourire certains physiologistes. Il y verront l'amorce d'une distinction faite dans le protoplasme entre deux catégories de matière vivante, de dignités différentes : *paraplasme*, matière vivante de catégorie inférieure; *protoplasme*, substance noble par excellence, lieu d'élection des oxydations, nouveau repaire peut-être, du principe vital!

Chez les physiologistes informés des lois de la morphologie, une telle attitude ne pourrait traduire que la crainte d'un mot; aucun malentendu ne peut subsister si l'on s'explique nettement sur le contenu de la notion de paraplasme. Schématisant pour la clarté de l'exposition, on peut admettre la dualité de ce paraplasme : il est tissulaire et cellulaire.

Le *paraplasme tissulaire* correspond au tissu conjonctif, au tissu adipeux, aux éléments de soutien, aux éléments fibrillaires ou de conduction dont les organismes vivants s'encombrent peu à peu au fur et à mesure qu'ils se différencient ou qu'ils avancent en âge. Étudiés en dehors de l'organisme, ces tissus montrent assez par la petitesse de leurs échanges la faible part qu'ils prennent aux oxydations totales de l'organisme. Faisant un pourcentage d'autant plus grand du poids vif des êtres vivants que ceux-ci sont plus près de l'état adulte, leur importance relative croissante fait que plus l'animal vieillit, plus le poids de son corps devient une représentation infidèle de la masse active véritable.

Le *paraplasme cellulaire* ou cytoplasmique trouve bien son expression dans ce que les cytologistes appellent les inclusions, mais ce sont sans aucun doute les physiologistes qui ont le concept le plus clair de ce que signifie ce paraplasme.

Du point de vue physico-chimique, ces inclusions ne sont rien d'autre que des *phases solides*. Elles jouent dans les équilibres protoplasmiques un rôle égal à celui des phases liquides ou gazeuses, mais conformément à la règle des phases elles n'interviennent que *proportionnellement à leurs surfaces, indépendamment de leurs masses.*

Puisque le paraplasme cellulaire existe, les conséquences de son existence sont immédiates pour nous : en pesant une cellule, un tissu, un organisme entier avec toutes les inclusions cellulaires qu'il contient, *et qui ne sont pas actives par leurs masses,* nous ne pouvons avoir qu'une représentation fausse de la masse active véritable.

Ces explications montrent suffisamment que le terme de paraplasme ne cache aucune idée métaphysique, il est né de constatations de faits.

D'ailleurs la notion de paraplasme n'est-elle pas très ancienne? Lorsque les physiologistes, au cours de leurs recherches sur les échanges matériels, rapportèrent successivement leurs résultats expérimentaux au poids vif, au poids sec, puis au poids sec

dégraissé déduction faite des cendres, à l'azote total compté en albumine, puis enfin à l'albumine elle-même dosée directement, n'essayaient-ils pas par tous ces procédés plus ou moins heureux d'éliminer les erreurs dues au paraplasme qu'ils ne nommaient pas?

En réalité, l'esprit de ces chercheurs était pénétré du vieil adage de Pflüger : *l'albumine seule est vivante*. Cette conception qui nous fait maintenant sourire porte la marque de son époque ; il faut l'y replacer pour concevoir combien tant de bons esprits ont pu s'y arrêter. Après avoir admis que l'albumine étant seule vivante représentait le protoplasme, ils furent conduits par leurs expériences mêmes à se demander : « Toute albumine est-elle vivante? » Question que nous poserions aujourd'hui sous la forme : « Toute albumine est-elle protoplasmique ou y a-t-il de l'albumine paraplasmatique? » Le problème se trouva posé lorsqu'il s'agit d'interpréter la signification des pertes considérables d'albumine suivies de réparation brusque, qu'on observe soit dans l'inanition expérimentale, soit au cours de l'évolution de certaines maladies graves (Lüthje (106), Lüthje et Berger (107). Il y eut à ce sujet des discussions passionnées, interminables, auxquelles prirent part Voit, Pflüger, Schöndorff, Bornstein, Röhmann, Von Noorden, etc., qui se demandaient la signification de l'albumine désignée tour à tour du nom de « Circulierendeseiweiss », « Reserveeiweiss », « Vorratseiweiss », etc. La part active prise par Rübner à ces discussions, l'importance des travaux et des idées nouvelles qu'elles lui ont suggérés, nous feront nous arrêter plus particulièrement à l'opinion de ce grand physiologiste.

Frappé par l'étendue des pertes azotées que peuvent subir les masses musculaires au cours du jeûne et de l'extrême rapidité avec laquelle ces pertes sont réparées, Rübner arrive à la conception suivante. Les cellules d'un organisme bien nourri sont dans un « état de nutrition optimal » ; au cours du jeûne, elles peuvent s'éloigner considérablement de cet état, perdre 50 p. 100 de leur azote sans que leur existence soit compromise. Elles sont passées, d'après lui, de l'état optimal, ou d'*euexie*, à celui de misère physiologique ou de *cachexie*.

La cellule se retrouve-t-elle à nouveau dans des conditions de milieu favorables, elle répare rapidement ses pertes, grâce à un *pouvoir de reconstruction* qui reste intact (**144**). Il n'y a là à vrai dire qu'une représentation verbale des faits et Rübner ne pouvait s'en contenter.

En le lisant attentivement, on trouve éparses dans son œuvre[1] des idées qu'il nous semble intéressant de relever, en dépit de ce qu'elles ont de vague, parce qu'elles sont en liaison directe avec nos conceptions personnelles et nos recherches, comme on le verra plus loin. Rübner a pensé au rôle important que devait jouer le noyau dans le processus de reconstruction, et d'autre part, au *quotient nucléoplasmique comme facteur limitatif* de la taille des cellules. Il a senti la nécessité, pour comprendre ces phénomènes, de faire appel aux propriétés fondamentales de la cellule, considérée comme unité de substance vivante.

Nous ne croyons pas trahir les idées de Rübner, en schématisant sous la forme suivante les conceptions de cet auteur : 50 p. 100 de l'albumine des cellules est labile et peut disparaître sans que l'unité cellulaire soit atteinte, sans que le pouvoir de reconstruction soit compromis. Cette albumine labile n'est représentative que de l'état de nutrition, *elle a tous les caractères d'un élément paraplasmatique*. L'autre partie, au contraire, qu'on retrouve au terme ultime de l'inanition, représente — si elle n'est pas qualitativement différente de la première — la quantité minimale d'albumine avec laquelle le maintien de la vie est encore compatible.

Qu'une partie de l'albumine soit paraplasmatique au même titre que les graisses ou le glycogène, c'est ce dont on ne saurait douter à la lecture de certains travaux. Erwin Voit (**165** *bis*) a déjà fait justice depuis longtemps des opinions soutenues par Schulz. Ce dernier auteur voyait dans l'augmentation prémortelle de l'élimination azotée observée dans le jeûne, le signe de la mort et de la résorption d'un grand nombre d'éléments cellulaires tués par l'inanition. Voit combattit cette idée en s'appuyant sur

1. Voir entre autres les pages 118 à 121 de « Kraft und Stoff » (**142**).

les travaux de Miescher. On sait que pendant la période qui précède la reproduction, le saumon ne mange pas. L'énorme croissance des glandes génitales se fait aux dépens des masses musculaires qui perdent jusqu'à 55 p. 100 de leur poids. Miescher a montré que cette fonte n'entraîne la disparition d'aucune fibre musculaire. D'autre part, dans la période qui suit le frai, on n'observe jamais histologiquement la néoformation de cellules musculaires. Miescher en conclut que les cellules ne subissent aucune variation de nombre : seule leur taille peut varier.

Ces observations sont non seulement d'accord avec les résultats expérimentaux d'Hans Aron (5, 6), sur la croissance normale et pathologique, mais encore avec les observations histo-physiologiques récemment faites par Moulton (124), qui sont peut-être plus démonstratives encore. Comparant les fibres musculaires de taureaux gras ou maigres à celles d'animaux soumis au jeûne, il voit que : 1° les aires de section perpendiculaire des fibres musculaires sont dans le rapport de 625 pour les animaux gras, à 506 pour les maigres et à 100 pour les jeûneurs ; 2° le volume des fibres qui est en moyenne de 9000 μ^3 chez le taureau gras, de 5500 chez l'animal maigre, n'est plus que de 640 chez le jeûneur. Ces volumes sont donc dans le rapport 14 : 8,6 : 1. Comme le dit Moulton, ces variations sont stupéfiantes. Il a, d'autre part, montré que la réduction de volume est due pour une grande part à la disparition des albumines intracellulaires.

On voit que les arguments les meilleurs, sinon les seuls valables, dont puissent se servir les physiologistes pour admettre l'existence d'albumine paraplasmatique sont empruntés à l'histologie. L'état de nutrition des cellules commande la grandeur des réserves albuminoïdes qui peuvent être considérablement réduites sans que l'unité cellulaire soit atteinte. Mais l'anatomie microscopique ne peut aller plus loin, elle est incapable de nous dire si l'albumine restant dans les cellules au moment de la mort par inanition est qualitativement identique à celle qui a disparu ou si elle en est différente. Les physiologistes hésitent à poser ouvertement cette question. Aucun principe ne s'oppose cepen-

dant à ce que les substances albuminoïdes du muscle disparaissent au cours du jeûne avec des vitesses différentes, ni à l'existence simultanée dans une même cellule d'albumines qualitativement distinctes. De toutes ces considérations, il ressort sans aucun doute qu'une partie des albuminoïdes doit être considérée comme pouvant être paraplasmatique au même titre que les graisses neutres ou le glycogène.

En résumé, nous retiendrons de ce qui précède que c'est bien à l'impossibilité où elle se trouve d'évaluer la masse active, « c'est-à-dire la masse de substance vivante produisant la chaleur » (Benedict), que la Bioénergétique doit de ne pouvoir actuellement progresser. Quel que soit le nom qu'on leur donne, ce sont les substances paraplasmatiques qui rendent difficile la détermination d'une unité valable à laquelle on puisse ramener la grandeur des échanges. Du point de vue bioénergétique le problème sera toujours complexe car la grandeur des échanges dépend non seulement de la masse protoplasmique active mais encore d'un *facteur d'intensité* sur lequel nous aurons à revenir.

Si la Bioénergétique nous a permis de comprendre le contenu de la notion de masse protoplasmique active, ce n'est pas elle qui nous permettra d'évaluer cette masse.

Quels procédés employer pour déterminer la masse active? Aucune tentative n'a-t-elle été faite dans ce sens, et qui soit à retenir? A notre connaissance, il en est une qui doit être prise en considération, moins pour les résultats positifs qu'elle a donnés que pour les espoirs qu'elle a fait naître en traçant une voie nouvelle.

Au cours de son travail consciencieux sur l'analyse des urines, Folin [57] constata le fait suivant : *La quantité absolue de créatinine éliminée dans l'urine des vingt-quatre heures (au cours d'un régime sans viande) est une quantité constante pour un même individu, et complètement indépendante des variations de l'azote total; elle est différente chez les différents individus*[1]. Les quantités de

1. L'indépendance de l'élimination de la créatinine d'avec le volume des urines ressort des chiffres suivants : un même sujet élimine le 30 juin

créatinine éliminées sont fonction du poids; si le parallélisme n'est pas complet, cela est dû à la grandeur variable des réserves adipeuses : les individus maigres ayant par kilogramme les éliminations les plus fortes, les individus obèses les plus faibles.

Ce fait remarquable fut confirmé et étendu en 1908 dans le beau travail de Philip Shaffer (152). Cet auteur montra que la constance de l'élimination de la créatinine chez un individu était vraie non seulement de jour en jour, mais *d'heure en heure*, indépendante et du volume de l'urine et de sa teneur en azote total. Il confirma le parallélisme entre la quantité absolue de créatinine éliminée par un individu et la masse de son tissu musculaire. Il appelle *coefficient de créatinine* la quantité de créatinine exprimée en azote éliminée par kilogramme en vingt-quatre heures.

P. Shaffer pensait que cette élimination régulière de la créatinine était le témoin d'une réaction à vitesse constante se passant quelque part dans l'organisme et dans laquelle la créatine — substance génératrice de la créatinine — devait être engagée. Le rapport constaté entre la masse des tissus musculaires et les quantités de créatinine éliminées conduisait à chercher dans les muscles la réaction invoquée. Cette supposition se trouva appuyée par les travaux de Myers et Fine (125-126) qui établissent :

1° Que la concentration en créatine des muscles d'une espèce donnée est constante, et caractéristique de cette espèce;

2° Que plus la teneur des muscles en créatine est élevée, plus le coefficient de créatinine est grand. Ceci ressort nettement de la considération des chiffres suivants :

	TENEUR DU MUSCLE en créatine p. 100.	COEFFICIENT créatinine.
Lapin	0,52	14,3
Homme	0,39	9,0
Chien	0,37	8,4

0 gr. 43 d'azote créatinique pour 2 300 centimètres cubes d'urine; le 6 juillet, 0 gr. 43 pour 505 centimètres cubes d'urine (par vingt-quatre heures). Ce même sujet donne de jour en jour : 0,40 — 0,39 — 0,40, — 0,43 — 0,43 — 0,42 — 0,40 — 0,41 — 0,43 — 0,44 — 0,41, etc.

Ils se demandèrent alors s'il existait un rapport constant pour une espèce donnée entre *la créatine totale du corps* et la *créatinine éliminée par vingt-quatre heures*. Pour des raisons pratiques, ils ont dosé la créatine de la carcasse, après enlèvement de la peau et des viscères, et ils ont fait le rapport $\frac{\text{créatine totale}}{\text{créatinine éliminée}}$; ne s'étant pas soucié de l'âge de leurs animaux ils ont obtenu pour ce rapport des chiffres quelque peu flottants. Mais si on ne tient compte que des animaux adultes, on obtient chez le lapin les chiffres suivants qui sont en somme concordants : Rapport $\frac{\text{créatine totale}}{\text{créatinine éliminée}} = 43{,}2 — 44{,}9 — 45 — 44{,}4 — 44{,}4 — 44{,}9.$

D'où leur conclusion :

3° L'élimination journalière de créatinine d'un individu d'espèce donnée permet de calculer indirectement le poids de ses muscles [1].

Cet ensemble de travaux mettait pour la première fois en évidence dans l'urine l'existence d'un élément représentatif, sinon de la masse protoplasmique active tout entière, du moins de la masse du tissu musculaire. Cette découverte était contemporaine des travaux de Bénédict montrant l'impossibilité de ramener les échanges à une unité satisfaisante ; elle suggéra l'idée de rechercher si les productions de chaleur n'étaient pas en rapport avec l'élimination de la créatinine. La part considérable prise par les muscles dans les échanges totaux justifiait un tel essai. Palmer, Means et Gamble (132 *bis*) montrèrent en 1914 que *chez un même sujet* la production de chaleur, exprimée en calories, était constante par milligramme de créatinine éliminée, fait peu étonnant si l'on considère les données du problème : constance de la production de chaleur d'un individu placé dans les conditions du métabolisme basal, constance de l'élimination de la créa-

1. Le travail de Mellamby (113) montre que l'âge de l'individu doit être pris en considération. Le rapport de la créatine du corps à la créatinine éliminée est plus grand chez les jeunes animaux.

tinine dans le régime sans viande. Le rapport ne peut être que constant[1].

Mais dès qu'on passe d'un sujet à un autre, le rapport n'est plus constant : pour des hommes de 25 à 31 ans on trouve 1,01 — 1,04 — 0,89 — 0,98 — 0,96 — 1,01 — 0,95 — 1,03. Les variations sont plus grandes encore si l'on considère que la valeur moyenne du rapport est 0,98 chez les hommes et passe à 1,26 chez les femmes. Ces chiffres montrent que si la part prise par les muscles dans les échanges est importante ce calcul néglige à tort le reste de l'organisme ; la créatinine ne peut nous fournir une réponse au problème posé. Il n'en reste pas moins vrai *qu'on peut espérer* — fort de cet exemple — *trouver dans l'urine un composé chimique résiduel qui soit le terme d'une réaction s'accomplissant à vitesse constante dans toutes les cellules de l'organisme, et qui de ce fait, soit, en régime d'équilibre, représentatif de la masse active tout entière.*

Du point de vue pratique, une méthode d'évaluation de la masse active basée sur le dosage d'un constituant urinaire serait extrêmement souhaitable ; du point de vue théorique on se trouve moins limité dans le choix des procédés et on peut chercher jusque dans les tissus eux-mêmes un représentant qualifié de la masse active.

Pour entreprendre cette recherche avec quelque chance de succès, il faut adopter une conception du protoplasme et de la cellule qui servira de base. La seule à laquelle nous nous arrêterons est celle qui s'appuie sur les données de la physicochimie moderne.

Comme l'a clairement exprimé dès 1906 Zwaardemaker (170-171), le protoplasme doit être considéré comme un système polyphasique hétérogène en équilibre. Cette définition entraîne un certain nombre de conséquences sur lesquelles ce physiologiste s'est longuement étendu.

1. Chez un individu en expérience, on trouve d'un jour à l'autre comme valeurs de ce rapport : 0 cal. 93 — 0,95 — 0,93 — 0,95 — 0,91 — 0,94.

Nous ne retiendrons ici que les suivantes :

1° Les variations de quantité d'une des phases de ce système ne changent rien à l'équilibre;

2° Dans un tel système polyphasique hétérogène, l'équilibre existe entre toutes les phases, même celles qui ne sont pas en contact immédiat.

L'idée que nous devons nous faire des matières de réserve de la cellule nous est dès lors dictée. Elles prennent aussi activement part à l'équilibre que tous les autres constituants, mais, comme nous l'avons déjà dit, si elles constituent une phase solide elles n'interviennent exclusivement que par *leurs surfaces de contact* avec la phase liquide, *nullement par leur masse*. De ce fait, leur état de dispersion prend une grande importance.

D'autre part, la masse absolue d'une substance peut varier dans de grandes limites sans que l'équilibre soit rompu. Le facteur qu'il faut invoquer pour expliquer les changements de concentration d'un élément protoplasmique, c'est la variation du rapport entre la constante de vitesse de la réaction de formation et la constante de vitesse de la réaction de destruction. Tant que ce rapport ne varie pas, le constituant considéré est en *régime d'équilibre*, et lorsque tous les constituants protoplasmiques sont en régime d'équilibre on aboutit à *un état stationnaire*.

Selon Zwaardemaker, nous dirons qu'une cellule est en *état stationnaire* (au sens d'Ostwald) toutes les fois que les deux courants d'énergie — d'entrée et de sortie — qui la traversent, s'égalisent. Pour que l'*état stationnaire* soit réalisé, il faut que l'équilibre chimique, l'équilibre thermique et l'équilibre de forme soient maintenus, ce qui ne supprime évidemment pas les mutations intérieures de la cellule. Ceci entraîne la constance de concentration des constituants cellulaires, *ce qui ne signifie nullement qu'ils sont immuables, mais que leur renouvellement se fait en régime d'équilibre*.

De même que la cellule, l'organisme tout entier peut être en « état stationnaire »; un tel état est réalisé dans les conditions où

l'on se place pour la détermination du métabolisme basal (adulte au repos dans une enceinte à 20-25°, 12 heures après le dernier repas). Cet état est exceptionnel ; il est manifestement rompu lorsque l'animal vit sur ses réserves dans le jeûne, ou lorsqu'il augmente de poids.

Mais la cessation de l'état stationnaire *entraîne-t-elle la rupture du régime d'équilibre de la totalité des constituants cellulaires* ? Existe-t-il au contraire des constituants dont le régime d'équilibre reste inchangé au cours des différents états de nutrition ? Du point de vue théorique, rien ne s'y oppose. Il suffit que ces éléments appartiennent au métabolisme endogène, qu'ils soient engagés dans des réactions à vitesse invariable dans toutes les conditions de nutrition.

C'est évidemment parmi ces éléments qu'il faudrait chercher des représentants de la masse active. Du fait même de la fixité de leur régime d'équilibre, ces éléments : 1° *resteront constants en valeur absolue chez l'adulte même inanitié*, 2° *augmenteront simultanément en concentration pour 100 grammes frais par suite de la disparition du métaplasme.*

Ces considérations entraînent un certain nombre de conséquences.

Chez les individus normaux d'une même espèce, un constituant cellulaire représentatif de la masse active ne montrera aucune constance de concentration en fonction du poids du corps, les quantités de paraplasme variant d'un animal à l'autre. Cette fixité n'apparaîtra pour un organisme enter que si par un procédé comme l'inanition prolongée on se débarrasse des matériaux de réserve. Mais au moment de la mort par le jeûne la constance de concentration existe, d'un individu à l'autre, pour *tous les éléments protoplasmiques.* Les réserves étant épuisées il s'établit un régime d'équilibre pour tous les éléments ; un apport de nourriture romprait instantanément celui des corps paraplasmatiques.

L'analyse immédiate des tissus nous montre-t-elle l'existence de composés chimiques dont les quantités absolues ne varient

pas au cours du jeûne et dont les concentrations augmentent? Le *Posphore lipoïdique total* est peut-être un de ces éléments. Mayer et Schaeffer (**112** *bis*) ont montré : 1°) Que cet élément est en concentration constante d'un individu à l'autre dans les organes glandulaires des animaux normaux. Nous ne pouvons rien en conclure; les organes glandulaires étant *relativement* pauvres en paraplasme, on y saisit la constance de cet élément comme on y saisirait celle de bien d'autres.

2°) Que le phosphore lipoïdique total augmente en concentration dans ces organes au cours du jeûne. Si l'augmentation n'est pas considérable cela tient à la faible proportion de paraplasme qui disparaît dans ces parenchymes.

Les auteurs n'ayant suivi que les variations du pourcentage et pas de la valeur absolue, il est difficile de conclure [1]. D'autre part, travaillant dans un autre esprit, il n'ont pas étudié ce que devient au cours du jeûne la concentration ou la valeur absolue du Phosphore lipoïdique chez les organismes entiers.

Il y a bien là l'indication d'un fait intéressant, mais nous ne nous y sommes pas attardés. Le Phosphore lipoïdique total, bien que d'une compréhension restreinte, est le représentant non pas d'un constituant cellulaire mais d'un groupe de constituants, les phosphatides, et peut-être même de combinaisons de l'acide glycérophosphorique qui ne leur sont qu'apparentées.

D'ailleurs nous devons pouvoir déterminer la masse protoplasmique active par le même élément, qu'il s'agisse de l'adulte, de l'embryon ou de l'œuf en voie de segmentation lui-même. Ceci implique que l'élément choisi *ne doit pas avoir d'histoire ontogénétique*, il doit être présent dans toutes les cellules et à tous les stades. Trouver un tel élément dans le protoplasme n'est pas

1. Dans les analyses immédiates de tissus faites par tous les auteurs, les résultats sont exprimés en pourcentage du tissu frais ou sec, sans tenir compte du fait que de l'état normal à celui d'inanition les proportions relatives de tous les éléments changent. L'unité à laquelle on se réfère n'est donc plus la même. R. de Betlingk (**11** *bis*) est un des rares auteurs ayant compris l'intérêt qu'il y aurait à suivre les variations des éléments en valeur absolue.

chose facile en raison de la grande complexité de ce système. Si l'on connaît l'histoire ontogénétique d'un certain nombre d'éléments protoplasmiques : acide urique (Fridéricia), glycogène (M. Aron), graisses (Fehling, Thomas), ferments (Lafayette, Mendel, Herlitzka), créatine (Mellamby), etc., on ignore tout d'un grand nombre d'autres. Cette difficulté s'ajoute à celle signalée plus haut de distinguer le paraplasme du protoplasme.

Mais ne pourrait-on chercher dans le noyau un élément qui satisfasse à toutes les conditions requises? Les faits qui nous y incitent sont les suivants :

1° Le noyau, contrairement au protoplasme, constitue un milieu fermé aux matériaux de réserve. Si du point de vue morphologique sa constitution est infiniment complexe, l'analyse chimique nous le présente jusqu'à ce jour comme très simple. Les noyaux de toutes les cellules quelle que soit leur provenance ne donnent à l'analyse qu'un unique constituant spécifique, l'acide nucléinique.

2° La quantité d'acide nucléinique contenue dans un organisme croît en valeur absolue avec le nombre des cellules. Elle augmente au cours du développement et de la croissance [Kossel (88), Tichomiroff (164), Burian et Schur (28), Fridericia (58)].

3° L'acide nucléinique n'est évidemment pas la masse active elle-même. Pour qu'il en soit un *représentant qualifié*, il *faut* que ses variations quantitatives soient parallèles à celles de la masse active tout entière. Autrement dit, il faut qu'à tout moment il y ait un rapport constant entre l'acide nucléinique représentant le noyau et un élément bien choisi représentant le protoplasme actif. L'existence de ce rapport nous permettrait d'exprimer la masse active en fonction de l'un ou de l'autre de ces deux facteurs; un tel rapport suppose un équilibre entre le noyau et le protoplasme.

Or les travaux modernes de cytomécanique nous ont appris l'existence, dans toute cellule, d'un équilibre réglant la grandeur du volume cellulaire et du volume nucléaire : *c'est le rapport nucléo-plasmatique*, dont il sera traité au cours de ce travail. Si

d'après Zwaardemaker (171), une « histologie énergétique » de l'avenir doit nous renseigner sur le nombre et la constitution des phases cellulaires (?), l'Histologie de l'heure présente nous montre déjà l'importance primordiale de la relation nucléoplasmique. S'il existe dans la cellule de nombreux équilibres, il est un qui les domine manifestement tous : c'est l'équilibre diphasique noyau-protoplasme. Telle que les morphologistes l'expriment, la relation nucléoplasmatique ne peut nous fournir que des indications ; mais en l'exprimant non plus en fonction des volumes mais des masses, elle gagne en profondeur et prend un sens physiologique. Son étude doit éclairer le problème de la masse active et faire simultanément progresser de nombreux points de la physiologie du développement.

Si l'organisme *adulte* est constitué pour la plus grande part de cellules ayant perdu la faculté de se diviser, on doit s'attendre à ce que le rapport nucléoplasmique traduisant un *état stable* ait une valeur fixe : son étude n'aurait pour nous qu'une valeur limitée. Nous devons suivre ce que devient le rapport qui nous intéresse au cours de l'évolution individuelle, c'est-à-dire dans des conditions où nous sommes sûrs que la masse active varie constamment et toujours dans le même sens.

Mais si l'acide nucléinique doit figurer au numérateur de notre quotient comme représentant du noyau, quel doit en être le dénominateur ?

Deux cas se présenteront :

1° *Le dénominateur sera représentatif de l'ensemble paraplasme plus protoplasme. Nous sommes fondés à supposer que dans ce cas le rapport ira en décroissant au cours de l'évolution d'un organisme.*

On sait en effet que plus un animal veillit plus il se charge d'éléments paraplasmatiques au sens morphologique du mot. D'autre part, nous savons que la grandeur des échanges exprimée en fonction du poids va en diminuant. Nous en concluons que plus l'animal vieillit, moins son poids vif est une image fidèle de sa masse active. Si l'acide nucléinique est

représentatif de la masse active il doit aller en se diluant constamment : d'où les valeurs décroissantes du rapport $\frac{\text{noyau}}{\text{protoplasme} + \text{paraplasme}}$.

2° *Le dénominateur représentera un élément exclusivement protoplasmique.*

Nous devons trouver pour ce rapport $\frac{noyau}{protoplasme}$ *une valeur fixe au cours du développement à partir du stade précoce où se trouve établie la relation nucléoplasmatique caractéristique de l'espèce.*

Pour choisir cet élément entre les nombreux constituants protoplasmiques, la biochimie nous est d'un précieux secours ; elle nous indique quels éléments sont engagés dans des réactions couplées avec les constituants nucléaires.

* * *

Dans ce travail, on ne trouvera exposée que la partie de nos recherches concernant l'évolution du premier de ces deux types de rapport. Nous attirerons l'attention sur les enseignements que la physiologie générale de la croissance en peut tirer. Nous donnerons dans un travail ultérieur les résultats que nous a fournis la détermination du second type de rapport nucléoplasmatique, en même temps que le résultat de nos recherches en cours sur la biochimie de la segmentation et de l'organogénèse qui en sont inséparables. Seule la considération de cet ensemble de travaux nous permettra de savoir si notre conception de la masse active protoplasmique et de sa détermination est fondée.

CHAPITRE II

LE RAPPORT NUCLÉOPLASMATIQUE DES MORPHOLOGISTES — ORIGINE — CONTENU APPLICATIONS — CRITIQUE

Toute étude du genre de celle que nous entreprenons suppose une connaissance exacte de la relation nucléoplasmatique des morphologistes et de sa signification biologique. Nul travail d'ensemble récent ne systématisant les nombreux faits acquis d'une façon propre à mettre en relief les points qui nous intéressent, nous allons tenter de le faire dans ce chapitre.

C'est Richard Hertwig (70) qui, en 1903, inventa l'expression de « Kernplasmarelation » ou rapport nucléoplasmatique. Voici ce qu'il écrivait à cette date : « Nous avons appris à connaître dans ce qui précède l'action réciproque très compliquée qu'exercent l'un sur l'autre le noyau et le protoplasme. La diminution de la masse nucléaire entraîne la réduction de la grandeur cellulaire (Boveri) : à l'augmentation de la masse nucléaire correspond l'accroissement de taille de la cellule (Gérassimow, Boveri). D'autre part, une diminution du plasma peut également produire une réduction du matériel nucléaire. Ces réactions réciproques ne peuvent s'expliquer qu'en admettant qu'il existe normalement pour chaque cellule un certain rapport entre la masse du noyau et celle du plasma que nous appellerons d'un mot *rapport nucléoplasmatique*. »

Cette citation a la valeur d'une définition de termes; elle nous dispense de tout commentaire. Pour établir sa conception du rapport nucléoplasmatique, Hertwig s'appuie sur des travaux

de Boveri et de Gerassimow. Ceux du premier de ces auteurs sont relatifs à la fécondation et à la segmentation, ceux du second traitent de l'influence exercée par la quantité de substance nucléaire sur la grandeur des cellules végétales. Nous aurons à revenir sur ces travaux.

Il est possible qu'avant R. Hertwig d'autres biologistes aient été conduits (Strasburger, 1893; O. Hertwig) à exprimer des idées analogues. Mais il est certain qu'il a énoncé le premier avec beaucoup de netteté l'idée qu'un rapport quantitatif existe entre la masse du noyau et celle du protoplasme.

Cinq ans plus tard (71), il s'étend sur la signification profonde de ce rapport : « Ce que la notion de Kernplasmarelation nous apporte de nouveau, c'est l'idée que les rapports de masse du noyau et du protoplasme, le quotient $\frac{N}{P}$ est un facteur réglé par des lois et dont la grandeur est d'une signification fondamentale pour tous les processus vitaux de la cellule qu'influence le noyau : assimilation et activité organisatrice, croissance et division. »

La fécondité de cette notion s'étant établie dans l'esprit des chercheurs, ils s'efforcèrent bientôt d'éclaircir en l'utilisant quelques-uns des grands problèmes biologiques : lois de la division cellulaire, de la segmentation, de la différenciation et du développement fœtal. Les études faites sur la mérogonie, la régénération, la sénescence, etc. tirèrent également un grand bénéfice d'une détermination systématique de ce rapport.

Attirons dès l'abord l'attention sur un fait : *toutes les déterminations morphologiques du RNP sont faites en fonction des volumes ou des surfaces*, seules données que la technique microscopique permette d'atteindre. Quand le cytologiste parle de rapport de masses, c'est abusivement comme nous le verrons dans la partie critique[1].

1. Nous désignerons désormais, pour abréger, le rapport nucléoplasmatique par ces trois lettres RNP.

1° Le RNP éclaire-t-il les lois de la division cellulaire?

Les histologistes connaissaient depuis longtemps l'existence d'une certaine proportionalité entre la grandeur d'une cellule et celle du noyau. Ils avaient remarqué que les cellules géantes de la moelle osseuse sont polynucléaires; que lorsque les cellules du foie des mammifères dépassent certaines dimensions, elles ont deux noyaux. Gérassimow un des premiers codifia ces faits d'observation courante dans son travail sur *Spirogyra Bellis* (60). Il distingua dans cette algue trois sortes de cellules; les grandes, les normales et les petites. Chacune de ces cellules avait un noyau proportionnel à sa taille, il existait chez ces cellules un rapport nucléoplasmatique évident. Des variations de ce rapport ne s'observaient que dans les périodes précédant la division cellulaire. Celle-ci se déclenchait pour une valeur critique du RNP.

Ces faits furent repris et étendus sur le matériel de choix que constituent les protozoaires par R. Hertwig et ses élèves (Popoff; Kazanzeff ; Wiertzbicki). Ils montrèrent sur les infusoires que la division cellulaire coïncide bien avec une valeur maximale, critique, du R N P. Après la division, le protoplasme croît plus vite que le noyau : c'est la période de croissance fonctionnelle; puis brusquement le noyau augmente de taille aux dépens du protoplasme (Teilungswachstum).

L'équilibre du RNP est rompu : la division s'en suit.

2° Que devient le RNP au cours des phénomènes de segmentation ?

Cette question a suscité de nombreux travaux; les opinions émises sont souvent contradictoires. Suivant leur objet d'étude, les chercheurs sont arrivés à des conclusions différentes. Nous aurons l'occasion de revenir sur les raisons variées qui expliquent ces divergences. Nous citerons et résumerons ici quelques-uns des travaux qui nous semblent les plus typiques.

Les recherches de Godlewski (62-63) et de ses élèves [Erdmann (50), Janina Bury (34), etc.] sont considérées comme classiques.

Pour ces auteurs la segmentation chez les Échinides peut être divisée en deux périodes. Pendant la première qui s'étend du stade 1 au stade 64, le volume nucléaire va croissant en progression géométrique. Le volume de l'œuf restant le même pendant toute la segmentation, l'augmentation de substance nucléaire ne peut se faire qu'aux dépens du protoplasme et la relation $\frac{\text{volume nucléaire}}{\text{volume protoplasmique}}$ va sans cesse en augmentant.

A partir de ce stade et jusqu'au stade Blastula (1 200 cellules) le volume nucléaire et partant le RNP exprimé en fonction des volumes n'augmentent plus que très lentement. Le résultat de la pulvérisation de la masse nucléaire, en noyaux plus nombreux mais de plus en plus petits, est une augmentation progressive des surfaces de contact noyau-protoplasme. Ce fait n'est pas sans intérêt du point de vue physiologique.

A la fin de la segmentation, on peut dire que le rapport nucléoplasmatique, exprimé sous la forme $\frac{\text{quantité absolue de chromatine}}{\text{quantité totale de protoplasme}}$ est fixé pour l'organisme entier.

Ces résultats sont consignés dans le tableau ci-dessous :

STADE de la division.	VOLUME de la masse nucléaire totale (trouvée).	VOLUME de la masse nucléaire totale supposée croissante en progression géométrique.	RAPPORT de la quantité totale de noyau à la quantité totale de protoplasme (exprimé en volumes).
Œuf non fécondé . . .	650	650	1 : 550
Œuf fécondé	1 300	1 300	1 : 275
Stade 2 cellules	1 382	1 300	1 : 275
Stade 4	2 084	2 600	1 : 177
Stade 32	19 938	20 800	1 : 18
Stade 64	30 262	41 600	1 : 12
Blastula.	30 716	»	1 : 6

Dans un travail plus récent sur les Mollusques, Conklin (40) arrive à des conclusions totalement différentes quant aux détails.

Pour lui comme pour Godlewski, le RNP est bien fixé chez l'individu au stade Blastula, il est le même dans les blastomères de ce stade que dans les cellules de l'individu adulte; mais l'auteur nie la fixité du RNP d'un individu à l'autre. Il constate que si les blastomères correspondants d'œufs différents ont même RNP, les différents blastomères d'un même œuf (espèce *Crépidula*) ont des RNP pouvant varier de $\frac{1}{29}$ à $\frac{1}{285}$ pour un stade donné de la segmentation !!!

Mais l'espèce *Fulgur* se conduit comme les *Échinides* de Godlewski et le rapport nucléoplasmatique des différents blastomères est le même...

A aucun moment, Conklin n'admet que l'augmentation de la substance nucléaire se fasse en progression géométrique. Jusqu'au stade 32, l'augmentation entre chaque division est de 5 à 9 p. 100. A partir de ce stade, seulement de 1 à 0,3 p. 100.

Opérant sur des œufs riches en deutoplasme il les centrifuge avant de faire ses mensurations de volume. Il se débarrasse ainsi des substances deutoplasmiques par un procédé très simple en vérité mais dont l'originalité est moins discutable que l'exactitude. Il saisit par des mensurations microscopiques la *synthèse* (?) du protoplasme aux dépens des substances de réserve : au stade 24, le protoplasme a un volume qui est 2,3 fois ce qu'il était dans l'œuf non fécondé.

Au lieu d'en conclure que les œufs de mollusques choisis par lui ne se prêtent pas à ce genre de recherches par l'abondance du deutoplasme qu'ils contiennent, il en conclut que le RNP n'étant ni une constante, ni un équilibre se réglant de lui-même, cette notion n'a rien de profond.

Plus intéressants et plus dignes de retenir l'attention sont les travaux de Enriques et de Lévi, recherches très précises faites avec beaucoup de soin sur des œufs qui s'y prêtent.

Paolo Enriques (48), se basant sur les résultats que lui fournit

l'œuf d'*Aplysie*, envisage l'existence d'au moins deux types de segmentation. Dans le premier type, l'augmentation de substance nucléaire se fait très rapidement jusqu'au stade 64 puis s'arrête : c'est le type *oligocaryotique* auquel appartient l'œuf des Échinodermes étudié par Godlewski. Dans le deuxième type, auquel appartient l'*Aplysie*, l'augmentation de substance nucléaire très lente pendant les premiers stades s'accélère et devient de plus en plus rapide jusqu'au stade 1000 cellules où le RNP serait fixé : c'est le type *mégalocaryotique*.

Pour Lévi (**101**), chez les Mammifères (œuf des Cheiroptères), on observe les faits suivants : du stade 1 au stade 8, le volume nucléaire n'augmente presque pas mais le protoplasme diminuant légèrement par suite d'expulsion de substance cytoplasmique, il s'ensuit une légère augmentation du rapport nucléoplasmatique. Du stade 8 au stade 100, le volume nucléaire va en doublant à chaque mitose, le volume de l'œuf restant sensiblement constant, la relation nucléoplasmatique augmente considérablement pendant cette période et se fixe au stade 100 blastomères.

En résumé si les conclusions des différents auteurs s'écartent les unes des autres dans le détail, ils sont d'accord pour admettre qu'*entre le stade 1 et le stade blastula le RNP augmente pour atteindre peu à peu la valeur caractéristique de l'espèce*. Cette variation continue n'a pas le caractère d'un phénomène contingent, accessoire; c'est par elle que se trouve définie la segmentation. « La segmentation est le processus grâce auquel l'œuf se segmente en cellules de plus en plus petites jusqu'à ce qu'elles aient atteint la taille normale de l'espèce, déterminée elle-même par le rapport nucléoplasmatique » [Brachet (**22**)].

3° Le RNP reste-t-il fixe dans les segmentations anormales?

Si la segmentation a pour but de rétablir le rapport nucléoplasmatique caractéristique de l'espèce, si ce RNP est l'aboutissement inévitable de tous les processus transformatifs

qui se passent jusqu'au stade blastula dans l'œuf fécondé, si ce rapport a bien la valeur d'un état d'équilibre (morphologique et physicochimique) vers lequel l'œuf tend inéluctablement, *on doit aboutir à ce RNP caractéristique quels que soient les troubles apportés à la fécondation.*

En est-il bien ainsi? Les admirables travaux de Boveri (20) le prouvent sans conteste. Cet auteur montra par des expériences de mérogonie pratiquées sur l'œuf d'oursin : 1° Qu'en faisant varier la taille du noyau de l'œuf on obtenait des larves ayant toutes la même taille, composées de cellules plus ou moins grandes mais ayant *toutes et toujours la même relation nucléoplasmique*;

2° Qu'en faisant varier la quantité de protoplasme de l'œuf au départ, on obtenait des larves de tailles différentes ayant un nombre de cellules variable *mais de relation nucléoplasmique normale ;*

3° Qu'en faisant varier simultanément la quantité de chromatine et la quantité de protoplasme, on change à la fois la taille de la larve et celle de ses cellules, mais que *jamais le rapport nucléoplasmatique n'est troublé.*

Ces résultats sont schématisés par nous dans le tableau IV[1] sous une forme propre à faire ressortir le résultat des diverses combinaisons possibles.

Les figures mêmes de Boveri qui illustrent le mieux ces faits, sont reproduites ici : Figures 1 et 2.

1. Pour la compréhension des termes employés dans ce tableau, il nous faut reproduire les définitions empruntées à Boveri :

I. Une larve *amphicaryotique* est une larve normale résultant de la fécondation d'un œuf par un spermatozoïde.

II. Une larve *arrhénocaryotique* provient d'un œuf amputé de son noyau, et d'un spermatozoïde.

III. Une larve *thélycaryotique* est celle qui provient d'un œuf parthénogénétique (pas de pronucléus mâle).

Les larves des types II et III sont dites *hémicaryotiques*, puisqu'elles dérivent d'un œuf n'ayant que la moitié du nombre normal des chromosomes.

IV. On peut obtenir des larves *diplocaryotiques* qui possèdent des noyaux à nombre de chromosomes double de la normale.

TABLEAU IV

	LARVES AMPHICARYOTIQUES.		LARVES HÉMICARYOTIQUES.		LARVES DIPLOCARYOTIQUES.	
Quantité de protoplasme.	Q	$\frac{Q}{2}$	Q	$\frac{Q}{2}$	Q	$\frac{Q}{2}$
Nombre de cellules. . . .	n	$\frac{n}{2}$	$2n$	n	$\frac{n}{2}$	$\frac{n}{4}$
Volume de chaque cellule.	V	V	$\frac{V}{2}$	$\frac{V}{2}$	2V	2V
Volume de chaque noyau.	v	v	$\frac{v}{2}$	$\frac{v}{2}$	$2v$	$2v$
RNP des cellules $=\frac{\text{Volume noyau}}{\text{Volume cellule}}$	identique dans toutes les larves.					
Volume total de la larve. .	nV	$\frac{n}{2}\times V=\frac{nV}{2}$	$2n\times\frac{V}{2}=nV$	$n\times\frac{V}{2}=\frac{nV}{2}$	$\frac{n}{2}\times 2V=nV$	$\frac{n}{4}\times 2V=\frac{nV}{2}$
Volume total des noyaux.	nv	$\frac{n}{2}\times v=\frac{nv}{2}$	$2n\times\frac{v}{2}=nv$	$n\times\frac{v}{2}=\frac{nv}{2}$	$\frac{n}{2}\times 2v=nv$	$\frac{n}{4}\times 2v=\frac{nv}{2}$
RNP de l'organisme entier $=\frac{\text{Vol. total des noyaux}}{\text{Vol. total des cellules}}$	identique pour toutes les larves.					

En présence de ces constatations, on comprend que les morphologistes définissent la segmentation par le rapport nucléoplasmatique lui-même, qui semble correspondre à un équilibre stable vers lequel les blastomères tendent inévitablement, et traduire le jeu d'une loi biologique profonde.

4° **Le rapport nucléoplasmatique qu'on observe au stade blastula est-il le même que celui qu'on observe chez l'adulte ?**

C'est ce que semblent laisser entendre les biologistes dont nous venons de citer les travaux ; mais il existe des faits qui nous paraissent difficiles à concilier avec cette opinion schématique et qui nous permettent de poser la question : Existe-t-il des variations du RNP au cours de l'organogenèse, de la vie embryonnaire, et de la croissance ?

Des études de ce genre n'ont pas été faites, à notre connaissance du moins, sur l'oursin ou l'aplysie. Il existe cependant des données tirées de l'embryologie des mammifères prouvant que le rapport $\frac{\text{volume du noyau}}{\text{volume du plasma}}$ évolue dans certains éléments jusqu'à un stade voisin de l'état adulte. C'est le cas des cellules nerveuses par exemple.

Les quelques mesures d'Eycleshymer faites sur le Necturus en voie de développement [rapportées par Minot (**118**)], les mesures de Mühlmann (**124** *bis*) sur les cellules nerveuses des embryons de bovidés, celles de Berezowski (**10**) sur les cellules du pylore de la souris blanche en sont autant de preuves. Mais le travail le plus probant sur la question est celui de Busacca.

A. Busacca (**35**) a étudié systématiquement, au cours de la vie intra et extra-utérine du porc, ce que devenait le rapport $\frac{\text{volume du plasma}}{\text{volume du noyau}}$ dans les cellules nerveuses des ganglions spinaux.

Il a confirmé et étendu les observations antérieures de Har-

desty, Morpurgo et Tirelli, G. Levi, sur la fixation précoce du nombre des neuroblastes au cours du développement embryonnaire. Le nombre des neuroblastes étant fixé, ils augmentent continuellement de taille au cours du développement et de la croissance. Mais le fait nouveau définitivement démontré par les mensurations soigneuses de Busacca c'est que le RNP exprimé en fonction des volumes diminue sans cesse (voir note 1 du tableau V). Les quelques chiffres ci-dessous empruntés aux résultats de cet auteur permettent de s'en rendre compte.

TABLEAU V

(extrait de Busacca (**35**), p. 273)

Variations du quotient « plasmaticonucléaire » dans les neuroblastes et cellules nerveuses des ganglions spinaux du porc

POIDS DE L'EMBRYON ou de l'animal en grammes.	VOLUME cellulaire en μ^3.	VOLUME des noyaux en μ^3.	RAPPORT [1] plasmatico-nucléaire.
0,71	562	219	1,56
2,75	1 230	376	2,27
12	2 086	376	4,54
41	3 483	470	6,41
79	6 083	546	10,14
270	25 222	1 024	33,39
401	39 201	1 124	33,87
635	88 279	1 898	49,77
+ 2 950	192 914	2 634	72,23
15 000	260 830	2 914	88,44
80 000	515 292	3 483	118,75
156 000	629 656	4 630	135,03

1. L'auteur faisant le rapport $\frac{P}{N}$ ses chiffres vont en croissant.

Le signe + = Naissance.

Nous nous trouvons là en présence d'un type cellulaire dont le RNP, *au sens des morphologistes*, loin d'être fixé depuis le stade

blastula tend vers un état d'équilibre qui ne doit être atteint que très tard. Dans le cas présent il évolue jusqu'à l'état adulte (porc de 156 kilogrammes).

Sommes-nous autorisés à généraliser? Ce qui est vrai des cellules nerveuses l'est-il encore d'autres cellules? Les recherches classiques de Bizzozero (**13, 14**) nous montrent le danger que présenterait une telle généralisation.

Les cellules nerveuses appartiennent comme les cellules musculaires striées, à la catégorie des éléments que l'histologiste italien nomme *éternels*. Dans les tissus composés de tels éléments la multiplication par mitose cesse à un stade très précoce de la vie embryonnaire. Le nombre de ces cellules se fixe, leur taille augmente comme celle de l'individu [1], mais elles ne se reproduisent plus et meurent avec lui.

Il existe au contraire dans les organismes des cellules qui se multiplient pendant toute la vie : *cellules labiles* de Bizzozero (rate, épithélium de revêtement, etc.). D'autres enfin, douées de propriétés intermédiaires, constituent les *cellules stables* (foie, rein, pancréas, etc.), chez lesquelles les mitoses s'arrêtent à la naissance ou peu après.

A priori il est possible que les différences séparant ces trois types cellulaires retentissent sur la valeur du RNP. On comprend la réserve des histologistes au sujet du rapport nucléoplasmique chez l'embryon et l'adulte; les variations de volume constatées dans les cellules âgées et différenciées peuvent tenir à l'accumulation de réserves paraplasmatiques et n'avoir de ce fait aucune signification profonde. Les travaux de Busacca n'en renferment pas moins une indication intéressante.

Le problème de la fixité du RNP dans les tissus de l'adulte est intimement lié à celui du rapport de la taille du corps au nombre des cellules. Tous les auteurs sont d'accord pour admettre que dans une espèce déterminée les différences de taille entre individus ne tiennent pas à la dimension des cellules mais à leur nombre.

1. La taille des cellules nerveuses des ganglions spinaux croît comme la grandeur des surfaces innervées.

5° Que devient le RNP des morphologistes au cours du jeûne?

Nous ne reviendrons pas sur les observations déjà citées de Miescher et de Moulton. S'adressant à des cellules qui, par définition, ne peuvent se multiplier et meurent avec l'individu, ils n'ont pu assister qu'à une réduction considérable du corps cellulaire sans pouvoir évaluer la part relative prise par le paraplasme à cette diminution. Les variations du RNP qu'on chercherait à établir dans de telles conditions n'auraient aucune signification. Mais il faut retenir que ces auteurs n'ont jamais pu saisir ni *la disparition ni la néoformation* d'aucun élément cellulaire. Les recherches de S. Morgulis (119-120) sur la salamandre (*Diemyctylus*) et sur le rat blanc portent au contraire sur des éléments stables et labiles (foie, pancréas, duodénum, peau). Il arrive aux conclusions suivantes : au début du jeûne, le protoplasme et le noyau diminuent, le premier beaucoup plus vite que le second. Rapidement, le noyau atteint une taille minimale à laquelle il se fixe. La diminution du corps protoplasmique continuant à se faire, il s'ensuit une augmentation du RNP. Pour une inanition suffisamment prolongée, on voit apparaître dans le foie de la salamandre un syncytium : les membranes cellulaires disparaissent, les noyaux sont noyés dans la masse protoplasmique. Si on remet l'animal en régime normal il y a, selon Morgulis, *régénération de nouvelles cellules*, très active au début. On est donc loin ici des cellules « accordéon » du muscle, et l'on ne peut admettre dans le cas de ces glandes une simple disparition des réserves ne touchant pas l'unité cellulaire[1].

Les cellules retrouvant la propriété de se diviser, il faut bien admettre qu'elles ont dû reprendre une relation nucléoplasmatique plus grande que la normale si ce rapport a quelque chose à faire avec la division cellulaire. Mais les biologistes saisissent également des variations du quotient $\frac{\text{volume du noyau}}{\text{volume de la cellule}}$ dans

1. Ces observations sont surtout nettes et très étendues chez la Salamandre, c'est-à-dire un type de vertébré inférieur.

les éléments éternels; comment expliquer que ceux-ci ne se divisent pas dans la période qui suit le jeûne? Seules les méthodes chimiques susceptibles de distinguer les variations du protoplasme et celles du paraplasme, nous permettront de saisir les raisons profondes de cette opposition.

L'étude de cette question est intimement liée à celle de *la réversibilité du rapport nucléoplasmatique;* ce problème lui aussi ne peut être abordé avec fruit qu'à l'aide des techniques biochimiques.

Cette revue rapide montre suffisamment l'intérêt du quotient nucléoplasmatique et les nombreuses applications que les morphologistes ont faites de sa détermination.

Mais quelle est la valeur de ce rapport tel que les morphologistes l'expriment?

Deux sortes de critiques peuvent être formulées : les unes portent sur le contenu même de la notion morphologique de RNP; les autres sur les méthodes employées pour évaluer ce quotient.

I. — Dans les premiers travaux de Gerassimow et de Boveri, les méthodes utilisées ne permettaient d'évaluer directement que la surface, et indirectement le volume de la cellule et du noyau. Or, dans la définition d'Hertwig, nous voyons apparaître le mot de *masse.*

Il semble donc que dans son esprit, on soit fondé à passer de mensurations de volume à un rapport de masses.

Dans le travail de Boveri (20), vont enfin figurer de nouvelles manières d'exprimer la relation nucléoplasmique. Selon lui, le protoplasma étant exprimé par sa surface, son volume, sa quantité (?) on peut également représenter le noyau à l'aide de 5 grandeurs liées entre elles par une proportionnalité :

La surface du noyau; la grandeur (volume) du noyau; la quantité (masse) de substance nucléaire (?); la quantité (masse) de chromatine; le nombre ou la grosseur des chromosomes.

Si les travaux de Boveri sont admirables dans leur esprit et

féconds dans leurs résultats, il n'en reste pas moins vrai que plus encore qu'Hertwig, il a contribué à créer une fâcheuse confusion entre les volumes et les masses.

Les cytologistes mesurent des *surfaces* qui sont transformées par le calcul en *volumes*, mais dans aucun cas ils n'ont les données nécessaires pour déterminer les *masses*, que seules les évaluations pondérales peuvent atteindre. Ces chercheurs sont fondés à nous renseigner sur le nombre ou la grandeur apparente des chromosomes, mais rien ne les autorise à parler de « masse » de chromatine. En un mot, on ne peut passer des volumes aux masses ni dans le cas du noyau, ni dans celui du protoplasme, qui ne sont pas des corps homogènes à densité fixe. Deux cellules peuvent avoir, à volume égal, des masses très différentes selon leur richesse en réserves, en eau, en graisse, etc. ; cette notion est si élémentaire qu'il est inutile d'insister[1].

Toutes les fois qu'on aura affaire à des cellules sans inclusions ni réserves, les rapports de volume auront un sens. Si deux cellules ont même masse protoplasmique, mais que l'une a des réserves, on ne pourra comparer leurs quotients nucléoplasmatiques. La valeur des corrections que l'on peut faire (centrifugation) est illusoire ; les réserves sont répandues au sein du protoplasme dans un état de dispersion extrême à l'exception des grosses inclusions graisseuses.

Ces critiques rendent parfaitement compte des contradictions existant dans les travaux de mécanique du développement et restreignent de beaucoup la valeur de certains résultats.

Que penser des valeurs du RNP trouvées au cours de phénomènes évolutifs entraînant la consommation de réserves, alors qu'à chaque instant varie la grandeur apparente du protoplasme ? Conklin, aux recherches duquel nous faisons allusion, a senti lui-même la gravité de ces objections.

1. Un cytologiste Kœhler [86] s'en est rendu compte. En 1912, il écrivait : « A l'exception des recherches de Lyon, tous les travaux sur le RNP n'ont qu'une valeur d'orientation et ne nous apprennent rien sur les rapports de masse qui lient le noyau au protoplasme. »

Il est regrettable que les morphologistes n'aient pas utilisé plus souvent un autre rapport, accessible à leurs méthodes, et qui a un sens physiologique facile à percevoir : c'est le rapport $\frac{\text{aire de la sphère du noyau}}{\text{aire de la sphère cellulaire}}$. Ce rapport est en relation directe avec les lois qui régissent les échanges entre le protoplasme et le noyau. Boveri s'en était aperçu dans ses études sur la mérogonie. Il avait remarqué que les larves diplocaryotiques [1] dont les noyaux sont deux fois plus gros qu'à l'état normal, ne vivent pas au delà du stade gastrula. Il explique ce fait par une grandeur insuffisante des surfaces d'échange noyau-protoplasme [2]. Les larves hémicaryotiques [1] dont les noyaux sont plus petits qu'à l'état normal, vivent bien au delà ; les surfaces de contact ci-dessus définies sont chez elles plus grandes que chez les larves normales.

II. — Il convient de dire quelques mots des méthodes employées en cytomécanique pour évaluer les surfaces et les volumes des noyaux et des cellules. Elles sont fort critiquables.

Dans le cas des pièces fraîches, la température, la réaction du milieu, les actions de surface (tension superficielle), la pression osmotique, sont autant de facteurs qui peuvent influencer le volume apparent des cellules, de l'aveu même des morphologistes.

Dans le cas des pièces fixées, les critiques faites par Rautmann (136), Kœhler (86) montrent que les surfaces apparentes observées sur coupe sont fonction du fixateur utilisé ; il faut toujours employer le même dans les recherches comparatives. Mais, fait très grave, l'influence d'un même fixateur est inégale et parfois de sens contraire sur le noyau et sur le protoplasme d'après Kœhler.

Dans toutes ces déterminations, noyaux et cellules sont arbitrairement assimilés à des figures géométriques parfaites : sphère ou ellipsoïde de révolution. Les volumes de ces solides sont

1. Voir la note 1 de la page 29.

2. Les surfaces ne croissent que comme le carré des dimensions pendant que les volumes croissent comme le cube.

calculés à partir des diamètres mesurés sur les pièces fraîches ou sur les coupes, par les formules :

$$\text{Aire de la surface de section de la sphère} = \pi r^2$$

$$\text{Volume de la sphère} = \frac{4}{3}\pi r^3$$

$$\text{Aire de la sphère} = 4\,\pi r^2$$

$$\text{Aire de l'ellipse} = \pi ab^2$$

$$\text{Volume de l'ellipsoïde} = \frac{4}{3}\pi a^2 b$$

r = rayon du cercle ; $a = \frac{1}{2}$ du grand diamètre de l'ellipse ;

$b = \frac{1}{2}$ du petit diamètre.

Les erreurs se trouvent donc multipliées quand on passe des mesures linéaires aux mesures de surface et de volume. De plus, les coupes sont supposées passer par le centre géométrique de la cellule ou du noyau [1].

Enfin, citons avant de terminer la méthode employée par Godlewski et ses élèves, très différente des procédés ci-dessus décrits.

Nous reproduisons ici la description qu'il en faisait encore tout récemment (64) : « Les contours du noyau et du plasma étaient dessinés sur un carton; les morceaux de carton répondant aux contours du plasma et du noyau étaient découpés et pesés sur une balance analytique. Le poids de 1 centimètre carré de carton étant connu, il est possible de calculer la surface du carton qui répondait à la coupe du noyau et du protoplasme de la cellule donnée. La surface de la coupe permettait *de calculer la masse du noyau et du protoplasme.* » (!!)

Nous pensons avoir montré dans ce chapitre ce qu'est dans l'esprit des morphologistes le rapport nucléoplasmatique, la manière imparfaite dont ils l'atteignent et l'intérêt des questions biologiques qu'il pose. L'importance de ces questions est telle qu'aucune imperfection de conception ou de méthode ne parvient à la masquer.

1. Il y a des variantes à ces méthodes comme celle d'Enriques qui détermine le volume du parallélipipède rectangle circonscrit à la cellule après mesure de 3 diamètres.

CHAPITRE III

TRANSPORT DE LA NOTION DE RAPPORT NUCLÉOPLASMATIQUE DANS LE DOMAINE PHYSIOLOGIQUE DÉTERMINATION BIOCHIMIQUE

Nous venons de voir que les morphologistes reconnaissent eux-mêmes l'insuffisance des procédés dont ils disposent pour faire la détermination correcte du RNP en fonction des volumes. Ils sentent également la nécessité d'une expression en fonction des masses, mais elle leur échappe; seuls les procédés chimiques permettent de l'atteindre. Des variations de volume du contenant, le morphologiste préjuge des modifications de masse du contenu; le chimiste, au contraire, peut atteindre directement celle-ci. Les deux notions de RNP ainsi définies ne se superposent pas, elles se complètent et s'éclairent mutuellement.

Le quotient nucléoplasmatique du biochimiste devra permettre de suivre toutes les variations de rapport entre les masses cellulaire et nucléaire, et de saisir le moment où le système atteint un équilibre stable. Cette forme chimique du rapport permet d'établir une liaison avec les problèmes du métabolisme nucléaire. Les méthodes chimiques ont dans le cas présent une supériorité évidente; toutes les cellules de tous les animaux peuvent être étudiées par des procédés uniformes; grâce à elles, la plupart des facteurs secondaires avec lesquels le cytologiste doit compter sont éliminés. D'autre part, toute détermination chimique faite sur quelques grammes de tissu donne la valeur moyenne du RNP pour un nombre considérable de cellules. Les

mensurations même nombreuses faites par les cytologistes ne peuvent atteindre une telle valeur moyenne.

Si, à notre connaissance, aucun auteur n'a posé le problème de la détermination chimique du RNP sous la forme précise que nous lui donnons, n'existe-t-il aucun travail qui puisse être considéré comme un essai dans ce sens? Ernst Masing (111) dans une courte note ayant pour titre : *Rapport entre la teneur en substance nucléaire et le développement*, a voulu voir si, au cours de l'évolution embryonnaire, l'augmentation bien connue de l'acide nucléinique — en valeur absolue — ne s'accompagne pas d'une diminution relative. Ce travail était une suite à ses recherches antérieures sur la régénération des globules rouges dans l'anémie expérimentale (112).

Dans le travail qui nous intéresse, Masing a étudié la dilution progressive de l'acide nucléinique dans l'embryon de lapin tout entier, et dans le foie isolé.

Nous reproduisons dans le tableau ci-dessous ceux de ses chiffres qui concernent la vie intra-utérine, nous les discuterons ensuite (tableau VI).

Il ressort clairement de la lecture de ce tableau qu'au cours du développement le phosphore nucléinique diminue par rapport à l'azote dans l'animal entier comme dans un organe considéré individuellement. Nous traduirons ces faits en disant que le rapport nucléoplasmatique va en diminuant.

Le travail de Masing est loin d'être convaincant; sa brièveté mise à part on peut lui adresser quelques critiques sérieuses. Pour doser le phosphore nucléinique, l'auteur emploie la méthode de Plimmer et Scott. Il eût été souhaitable que Masing justifiât par quelques déterminations comparatives l'emploi de cette méthode et montrât le degré d'approximation qu'on en pouvait attendre. La façon dont il se débarrasse du phosphore lipoïdique, sans utiliser d'appareil à épuisement continu, n'est pas à l'abri de toute critique. Quant à la forme d'azote à laquelle il rapporte le phosphore nucléinique il est difficile de la définir. Ce n'est pas l'azote total, c'est l'azote restant dans la poudre d'organe extraite

TABLEAU VI

D'après Masing (111), p. 137 et 138

EMBRYONS TOTAUX DE LAPINS.		FOIES D'EMBRYONS DE LAPINS.	
Signalement des embryons.	Phosphore nucléinique en milligr. pour 0 gr. 35 d'azote.	Signalement des embryons.	Phosphore nucléinique en milligr. pour 0 gr. 35 d'azote.
I. 18 embryons de 5 à 15 mm. Première moitié de la gravidité. Azote total, environ 21 milligr.	20,3	I. 2 foies du commencement de la 4e semaine de la vie embryonnaire. Poids moyen, 2 gr.	22,8
II. 2 embryons pesant 21 gr. 5 en moyenne. Environ du début de la 4e semaine.	17,8	II. 5 foies d'un stade ultérieur. Poids moyen, 1 gr. 8. . . .	20,4
II *bis*. 1 embryon du même stade, 22 gr. 5.	17	III. 5 foies, 1 ou 2 jours avant la naissance. Poids moyen, 2 gr. 6.	18
III. 2 embryons un peu plus vieux que les précédents. Poids moyen, 28 gr.	14,7	IV. 4 foies d'animaux pris à la naissance (petite race). Poids moyen, 2 gr. 3. . . .	17
IV. 4 embryons, 1 ou 2 jours avant la naissance. Poids moyen, 36 gr.	13		
V. 2 embryons à terme. Poids moyen : 43 gr.	12		
VI. Jeunes immédiatement après la naissance (petite race). Poids moyen, 33 gr. .	11,7		

successivement par l'alcool chaud, l'éther, puis par 25 volumes d'HCl à 1 p. 100. De cet azote l'auteur ne retranche pas l'azote nucléinique qui fausse d'autant plus son rapport que l'animal considéré est plus jeune.

Mais bien plus graves sont les critiques qu'on peut faire aux

données morphologiques de Masing. Les stades embryonnaires sont déterminés avec une grande imprécision : ni l'âge, ni la longueur — seuls caractères ayant une valeur embryologique — ne sont exactement fixés. L'auteur ne s'étant pas, de son propre aveu, adressé à des animaux de même race, les poids perdent la valeur relative qu'ils ont habituellement; or, ils sont parfois seuls à être pris en considération tant pour les organes que pour les animaux entiers. Il est impossible d'utiliser ces résultats pour tracer une courbe : on ne peut que constater sans plus la valeur décroissante du phosphore nucléinique.

Masing a prévu, pour le cas du foie, une objection possible. Le foie embryonnaire est un organe hématopoïétique; la diminution d'acide nucléinique constatée au cours du développement peut tenir aussi bien à la régression du tissu formateur d'hématies qu'à une modification des cellules hépatiques elles-mêmes. Cette objection ne saurait être invoquée après la naissance, et l'acide nucléinique continue cependant à baisser jusqu'au 22e jour de vie extra-utérine. En dépit de ces critiques, bien qu'à aucun moment Masing ne déclare s'être proposé une détermination chimique du RNP, nous considérons la dilution progressive d'acide nucléinique observée par l'auteur comme traduisant une chute progressive du quotient nucléoplasmique.

Nous pensons avoir mis hors de doute l'existence de cette chute au cours du développement à l'aide d'expériences relatées plus loin, et en empruntant d'autres techniques. Mais la façon dont nous posons le problème du RNP chimique nous oblige à justifier les raisons qui nous poussent à considérer comme représentatifs du noyau et du protoplasme certains éléments et non d'autres. Nous ne saurions nous contenter de constater la dilution de l'acide nucléinique par rapport à 0 gr. 35 (?) d'un certain azote comme le fait Masing. La justification que nous devons fournir peut être brève étant donnés les faits consignés dans le chapitre premier.

Si les cytologistes distinguent dans le noyau plusieurs constituants suivant leur localisation ou leur aptitude à retenir les

colorants (nucléine ou chromatine, linine, suc nucléaire, etc.), le chimiste ne connaît qu'un seul composé spécifique du noyau : l'acide nucléinique. La question de savoir si la chromatine et l'acide nucléinique sont une seule et même substance n'est pas résolue. Certains classiques comme Wilson l'admettent; dans nombre de travaux modernes comme ceux de Godlewski, l'assimilation de l'une à l'autre semble être complète. Aucune expérience ne démontre absolument cette identité, à notre connaissance tout au moins. Le botaniste Nemec (127) est un des rares chercheurs qui aient abordé expérimentalement cette question, mais par une voie un peu indirecte, et sans l'éclaircir.

Nous ne pouvons entrer ici dans le détail de toutes ces discussions. La présence de l'acide nucléinique dans tous les noyaux, la forte proportion pour laquelle il y entre [1], justifient son choix comme représentant du noyau.

D'autre part, les morphologistes semblent d'accord pour admettre qu'entre les différents constituants nucléaires qu'ils distinguent il existe un équilibre : plus un noyau est gros, plus ses chromosomes sont volumineux, plus il contient de suc nucléaire (Boveri, Conklin, etc.).

Mais le dosage de l'acide nucléinique en nature n'est pas actuellement réalisable; nous devons nous contenter d'une détermination indirecte que nos connaissances sur la constitution de ce corps rendent possible. La molécule d'acide nucléinique (d'origine animale) contient les composés chimiques définis suivants :

Acide phosphorique.

Bases puriques (guanine et adénine).

Bases pyrimidiques (cytosine, thymine).

Un hydrate de carbone (hexose?).

Lequel de ces constituants choisirons-nous comme représentant de la molécule tout entière? Deux d'entre eux doivent être éliminés dès l'abord :

(1) Miescher et Schmiedeberg ont montré que dans les têtes de spermatozoïdes du saumon, le nucléinate de protamine fait 96 p. 100 du poids sec : acide nucléinique 60,5 p. 100; protamine 35,5 p. 100.

1° L'hexose dont la nature est inconnue, et dont seuls les produits de transformation (acides formique et lévulique), nullement spécifiques, sont accessibles ;

2° Les bases pyrimidiques, sur la détermination quantitative desquelles nous n'avons que des données fort incomplètes.

Il nous reste à choisir entre l'acide phosphorique et les bases puriques.

Le dosage de l'acide phosphorique est utilisable et nous y avons eu recours dans certains cas. La détermination du phosphore nucléinique par la méthode de Plimmer et Scott ne repose malheureusement pas sur un procédé d'isolement spécifique : elle suppose réalisée l'élimination intégrale de toutes les autres formes de combinaisons phosphorées. Si l'on considère que le nombre de ces combinaisons va en augmentant constamment avec les progrès de la chimie biologique on peut se demander *a priori* si cette méthode remplit bien son but. Outre les phosphates minéraux on connaît actuellement dans les cellules : le phosphore lipoïde et les autres combinaisons organiques de l'acide glycérophosphorique, les éthers phosphoriques de l'inosite qui n'existeraient pas seulement chez les végétaux d'après certains auteurs; les hexosephosphates et composés similaires, enfin les vitellines.

Nous aurons à examiner dans un autre travail les difficultés soulevées par le dosage du phosphore nucléinique et les vérifications nombreuses qu'il faudrait effectuer pour être convaincu de son exactitude.

Nous nous sommes arrêtés dans le présent travail à la détermination de l'acide nucléinique par les *bases puriques*. Le dosage de ces bases repose sur l'emploi d'une réaction de précipitation spécifique du noyau purique. Quelles que soient les difficultés pratiques rencontrées dans l'application de cette méthode — elles sont nombreuses, on le verra — nous n'avons pas de meilleur procédé pour évaluer indirectement l'acide nucléinique.

Ne voulant exposer ici que nos recherches sur les variations du noyau par rapport à l'ensemble du corps cellulaire il nous faut

choisir comme dénominateur du quotient $\frac{N}{P}$ un élément qui représente à la fois le protoplasme et le paraplasme. Nous pourrions utiliser soit l'azote total soit l'azote albuminoïde. Ces deux formes d'azote peuvent être de valeurs très différentes chez l'adulte ; elles sont très voisines chez l'embryon et liées par un rapport sensiblement constant. Les raisons qui nous ont fait rejeter l'emploi de l'azote albuminoïde sont d'ordre exclusivement expérimental. L'application aux embryons, de porc par exemple, de la méthode très exacte établie par Janney (79) pour le muscle d'animaux adultes est sinon impraticable du moins très difficile. La coagulation des tissus embryonnaires par l'acide acétique donne des masses gélatineuses dont la filtration et le lavage à l'eau bouillante sur les filtres colmatés est interminable. Dès que les embryons atteignent 1 kilogramme il ne faut pas songer à s'en servir.

Au contraire, la technique que nous avons employée pour la détermination de l'azote total est encore applicable à des embryons de bovidés pesant trois kilogrammes ; c'est dire qu'elle est d'un emploi très général.

Si l'azote total figure au dénominateur de notre rapport, il reste bien entendu *qu'il n'y représentera nullement la masse protoplasmique active*. C'est bien à tort qu'on l'a souvent considéré comme jouant un tel rôle ; nous nous sommes suffisamment expliqués sur ce point pour n'avoir pas à y revenir. L'azote nucléinique (somme de l'azote purique et de l'azote pyrimidique) devrait être retranché de l'azote total pour que ce dernier ne soit représentatif que du corps cellulaire. Nous n'en avons soustrait que l'azote purique, représentant les deux tiers de l'ensemble et qui seul est donné directement par l'expérience. Ceci change la valeur absolue des rapports, mais nullement leurs valeurs relatives qui seules nous intéressent. De même, nous n'avons fait figurer que l'azote purique au numérateur.

Voulant mettre surtout en relief la chute progressive, régulière, du rapport nucléoplasmatique au cours du développement,

nous avons exprimé ce rapport sous la forme suivante, pour n'avoir que des valeurs entières :

$$\frac{NP \times 100}{NT - NP}$$

où NP représente l'azote purique des aminopurines et NT l'azote total.

CHAPITRE IV

LE DOSAGE DES AMINOPURINES DANS LES TISSUS ÉTUDE CRITIQUE ET EXPÉRIMENTALE

Comme on l'a vu, nous voulons avoir une évaluation indirecte de la masse des noyaux par l'azote des aminopurines qu'ils contiennent. On sait qu'il existe dans l'organisme deux grands groupes de purines : les *aminopurines* (guanine et adenine) qui existent à l'état combiné dans la molécule d'acide nucléinique et d'autre part, les *oxypurines* (xanthine, acide urique, etc.) qui sont le plus souvent appelées purines libres et qu'on doit considérer comme des produits du métabolisme des premières. Le problème revient à établir une méthode de dosage des seules aminopurines.

Il n'y a pas lieu de s'étonner que les méthodes de dosage de l'acide urique et des oxypurines soient les plus anciennes et les mieux connues, leur étude étant directement en rapport avec les problèmes chimiques et physiologiques posés depuis longtemps par l'analyse des urines. Ces méthodes dérivèrent toutes, au début, du procédé de Ludwig qui consistait à précipiter, en milieu ammoniacal, l'ensemble des purines par le nitrate d'argent. En 1894 parut le premier travail de Martin Krüger montrant la possibilité d'isoler la totalité des bases puriques à l'état de combinaisons cuivriques, par l'emploi de sulfate de cuivre en milieu bisulfitique.

De ce moment naîtra entre les partisans de la méthode argentique et ceux de la méthode cuivrique, une discussion qui n'est pas encore close aujourd'hui; commencée à propos de l'analyse des urines, elle continuera au sujet des tissus. Nous n'avons pas à entrer dans le détail des faits concernant la *déter-*

mination quantitative des purines totales dans l'urine. Le point sur lequel portaient toutes les discussions était de savoir si les chiffres plus forts fournis par la cuivrique étaient dus à un dosage plus exact des purines, ou à l'entraînement d'impuretés azotées[1]. Notre expérience personnelle nous a conduit à des conclusions tout à fait en accord avec celles de Steudel et de ses collaborateurs (158), conclusions auxquelles Salkowski lui-même s'est rallié (145). Les chiffres donnés par la méthode cuivrique sont légèrement plus forts, même lorsqu'on fait une double précipitation cuivrique et qu'on chasse toute trace d'azote ammoniacal par la magnésie. Les chiffres plus faibles obtenus par le procédé de Ludwig doivent être attribués à la légère solubilité des combinaisons argentiques dans l'eau chaude ou ammoniacale des lavages, en l'absence d'un excès d'argent. Dans le cas de l'urine le seul problème délicat est le dosage séparé de l'acide urique et des autres oxypurines.

Le dosage des aminopurines dans les tissus nous intéresse seul, mais nous n'entreprendrons pas d'en faire un historique complet : nous étudierons rapidement les deux seules méthodes en présence pour le dosage des purines totales, 1° celle de Burian et Hall; 2° celle de Krüger et Schmid avec les variantes qu'elle comporte (Schittenhelm); nous examinerons ultérieurement les procédés de séparation de l'acide urique qui leur sont adjoints. Quand on lit les mémoires traitant de l'établissement de ces méthodes et de leur comparaison, on est frappé de l'allure peu systématique des recherches et de la difficulté qu'on éprouve à en faire une exposition condensée. La faute n'en saurait être exclusivement attribuée aux chercheurs, et il faut avoir pratiqué soi-même ces procédés analytiques pour saisir la complexité des causes d'erreurs qu'ils supposent écartées.

Avant de critiquer les méthodes entre lesquelles nous pouvions choisir, nous devons en donner la description.

1. Dans ces méthodes, les purines sont déterminées par l'azote.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE DE BURIAN ET HALL (31)

1° Préparation de l'extrait d'organe

L'organe broyé est bouilli pendant douze heures avec H^2SO^4 à 0,5 ou 1 p. 100 en volume, à raison de 1 litre pour 100 grammes d'organe. On filtre, on reprend 3 fois le précipité resté sur le filtre par 3 courtes ébullitions à l'eau acidulée. Les liquides de lavage sont réunis au filtrat principal.

2° Préparation de l'extrait pour la précipitation principale

Le filtrat et les liquides de lavage sont réunis et traités par un gros excès de baryte pulvérisée. Un excès est nécessaire pour avoir une bonne désalbumination et une décoloration satisfaisante du liquide. Le précipité de SO^4Ba est lavé à fond par de l'eau à 60°. Dans le filtrat réuni aux eaux de lavage on fait passer un courant de CO^2 jusqu'à réaction neutre ou faiblement acide. On filtre le CO^3Ba et on le lave à l'eau chaude. On arrive à avoir ainsi un volume de 2 à 3 litres de liquide pour 100 grammes d'organe. On acidule fortement par l'acide acétique et on concentre à 100 cc^3. L'évaporation commencée à feu nu se termine au bain-marie. On ne doit jamais filtrer les flocons bruns qui se forment pendant la concentration. Quand la concentration est terminée on alcalinise en utilisant le mélange suivant :

NaOH à 33 p. 100.	500 centimètres cubes
CO^3Na^2 à demi-saturation.	500 —

On filtre le nouveau précipité de CO^3Ba sur un petit filtre, on le lave avec de l'eau à 60°. Le filtrat est acidifié par un peu d'HCl pur ; on concentre ensuite s'il est nécessaire, le volume ne devant pas dépasser 200 cc^3 pour 100 grammes d'organe.

3° Précipitation principale

On sursature le liquide d'ammoniaque et on précipite les purines avec 30 à 50 centimètres cubes de la solution de chlorure

d'argent ammoniacal de Ludwig[1] ; on ne doit pas employer de nitrate. Le précipité argentique est lavé avec un peu d'ammoniaque étendue, puis à l'eau chaude plusieurs fois.

On recueille quantitativement le filtrat et les eaux de lavage. Le précipité, recueilli sur un filtre sans cendres est introduit dans un matras à Kjeldahl. On chasse l'ammoniaque à l'ébullition avec de la magnésie puis on dose l'azote par un kjeldahl.

4° Précipitation de correction

Le filtrat et les eaux de lavage sont acidifiés par l'acide acétique ; on précipite l'argent par un courant de H^2S. On fait bouillir pour rassembler le sulfure d'argent colloïdal. On concentre à 100 cc³ par 100 grammes d'organe. On filtre Ag^2S ; on lave à l'eau chaude, puis on fait bouillir le filtrat pour chasser H^2S. Le volume doit être à ce moment de 200 cc³ pour 100 grammes d'organe. On ajoute alors de l'*acétate basique de plomb*[2] jusqu'à réaction alcaline, mais il ne faut pas en mettre un excès. On a ainsi un liquide désalbuminé, qui contient un mélange d'acétate et de sous-acétate de plomb. Mais le sous-acétate étant en excès les bases puriques restent en solution. Le précipité plombique est rassemblé, filtré, lavé soigneusement à l'eau froide. On enlève le plomb dans le filtrat par H^2S après acidification. On fait bouillir, on filtre le sulfure de plomb qu'on lave plusieurs fois à l'ébullition. Le filtrat et les eaux de lavage débarrassés d'H^2S sont concentrés à raison de 30 à 40 cc³ pour 100 grammes d'organe. On sature par NH^3 et on précipite les purines par le chlorure d'argent ammoniacal. Le précipité est traité ensuite comme dans

1. Cette solution s'obtient de la façon suivante : on précipite à chaud une solution aqueuse de nitrate d'argent (26 gr.) par l'acide chlorhydrique, on lave à fond le chlorure ; on le redissout dans 1 litre d'ammoniaque.

2. On fait fondre à une douce chaleur dans une capsule 300 grammes d'acétate neutre de plomb, on ajoute alors 100 grammes de litharge en poudre. On chauffe en agitant jusqu'à ce que la masse soit devenue blanche, on reprend par 700 cc³ d'eau bouillante, on fait bouillir quelques instants, on refroidit et on filtre.

la précipitation principale. L azote purique total est égal à la somme de l'azote trouvé dans les 2 précipités argentiques.

DESCRIPTION DE LA MÉTHODE DE KRÜGER ET SCHITTENHELM (97, 98)

On prend 50 à 100 grammes d'organe qu'on hydrolyse pendant quatre heures avec 1 litre d'acide sulfurique à 5 p. 100. On filtre, on reprend trois fois le filtre par une courte ébullition avec de l'eau acidulée dans le ballon où a eu lieu l'hydrolyse. Le filtrat et les eaux de lavage réunis sont alcalinisés légèrement par la soude, acidifiés par l'acide acétique et portés à l'ébullition. On filtre l'azote humique qui s'est rassemblé en flocons, on le lave à l'eau acidulée par l'acide acétique. Le filtrat est très faiblement alcalinisé par la soude ; on ajoute autant de fois 10 cc³ de bisulfite de soude à 40 p. 100 qu'il y a de fois 100 cc³ de filtrat. On fait bouillir, et l'on précipite les purines par un volume de SO^4Cu à 10 p. 100 égal au volume de bisulfite employé. Après trois minutes d'ébullition on filtre sur un filtre à plis. On s'assure par un essai sur le filtrat que la précipitation a été complète. Le précipité cuivrique est lavé à l'eau bouillante. On le décompose dans une capsule contenant 200 cc³ d'eau chaude par 30 à 40 cc³ d'une solution de Na^2S [1]. Cette quantité suffit dans la plupart des cas. Pour être sûr qu'il y en a un excès on prélève une goutte qui doit noircir le papier à l'acétate de plomb. La décomposition est complète vers 60° en une minute et demie environ. On acidule fortement par l'acide acétique, on fait bouillir ; on filtre à chaud, on lave à fond par l'eau bouillante. Le filtrat et les eaux de lavage sont concentrés et on refait une précipitation cuivrique. Ce second précipité soigneusement lavé est kjeldahlisé, l'azote trouvé correspond à celui des purines totales.

1. Le sulfure de sodium ne doit pas être préparé depuis plus de quarante-huit heures. On fait une solution de soude pure à 1 p. 100. On en prend une moitié qu'on sature par H^2S et qu'on réunit à l'autre ensuite.

Certains auteurs emploient la technique de Krüger et Schmid et remplacent la 2e précipitation cuivrique par une argentique. Le liquide de décomposition du premier précipité cuivrique est concentré à 50 cc³ environ, puis alcalinisé par l'ammoniaque. On précipite les purines par 20 cc³ de nitrate d'argent ammoniacal (26 grammes de nitrate d'argent dans un litre d'ammoniaque); on entraîne le précipité en provoquant simultanément la formation de phosphate ammoniacomagnésien. A cet effet, on ajoute 10 cc³ de biphosphate de soude à 6 p. 100 et 5 cc³ de mixture magnésienne[1]. Le précipité argentique recueilli sur un filtre sans cendres est lavé à l'eau ammoniacale, puis à l'eau bouillante. On fait bouillir le filtre et son contenu dans un matras avec 1 gramme de magnésie calcinée pour chasser NH^3 et on dose l'azote par un kjeldahl.

ÉTUDE CRITIQUE DE CES MÉTHODES

A. Méthode de Burian et Hall

Si on laisse de côté les essais de Kossel qui avaient un caractère plus qualitatif que quantitatif, on peut dire que les premiers Burian et Schur (28) donnèrent une méthode de dosage des purines dans les tissus; elle devait trouver son expression finale dans le mémoire de Burian et Hall (31). Cette méthode qu'on vient de décrire est considérée par W. Jones (81) comme la plus exacte dont nous disposions à l'heure actuelle, mais l'auteur ne justifie en rien cette opinion. Nous sommes d'accord avec lui pour affirmer qu'en raison de sa longueur et des opérations fastidieuses qu'elle comporte, cette méthode est inapplicable en série mais nous ne sommes pas sûrs qu'elle soit la meilleure.

Les premiers essais de Kossel avaient montré que la présence d'albumoses, de peptones, d'acide nucléinique incomplè-

1. La formule est la suivante : $MgCl^2$: 100 grammes ; NH^4Cl : 200 grammes; NH^3 : 300 cc³ pour un litre.

tement hydrolysé empêchait la précipitation argentique des purines. Burian et Hall hydrolysant leurs tissus avec de l'acide sulfurique faible (1 à 1,5 p. 100) furent obligés d'imaginer un procédé éliminant du même coup toutes ces substances. L'addition de baryte au liquide d'hydrolyse détermine la production d'un précipité de sulfate qui retient en même temps que l'azote humique la majeure partie des substances empêchantes.

Mais Burian et Hall ne se soucièrent pas de rechercher si en hydrolysant les tissus à des concentrations plus fortes, la quantité de purines libérées augmentait. Les recherches ultérieures de Sieber et Dzierzgowski (153), puis de Friderica (58, pages 101-113) ont montré qu'à des concentrations de 30 à 50 p. 1000 d'acide sulfurique, les quantités de purines libérées étaient plus grandes que pour des concentrations de 15 p. 1000. Mais les aminopurines étant sensibles à l'action des acides forts à chaud, il existe comme nous le montrerons une limite de concentration au delà de laquelle les quantités détruites compensent les quantités libérées. Il y a donc à éviter un double écueil.

Si l'emploi de la baryte apparaît comme un procédé de choix pour obtenir des liquides incolores particulièrement propres à la précipitation argentique, la question se pose de savoir si le précipité de sulfate de baryum ne retient *ni aminopurines, ni oxypurines.* Kossel avait montré que l'adénine précipite par l'eau de baryte, fait que Burian et Hall rappellent eux-mêmes. Or ces derniers auteurs ont vérifié leur méthode sur la xanthine, l'hypoxanthine et la guanine, mais précisément pas sur l'adénine. Si d'autre part l'acide urique peut exister dans certains tissus, est-il oui ou non dosé par leur procédé? His et Hagen (73) avaient indiqué que cette oxypurine n'était plus dosable dès que la baryte avait été employée *en excès* pour neutraliser le liquide d'hydrolyse. La lecture de nos expériences de contrôle montrera *qu'une partie et une partie seulement de l'acide urique* est éliminé par la baryte à l'état d'urate insoluble $C^5H^2N^4O^3Ba + H^2O$. C'est un fait qu'il ne faut jamais perdre de vue dès que l'on prétend comparer la méthode de Burian et Hall à celle de Krüger-Schittenhelm.

Sur le liquide désalbuminé et débarrassé de baryte, on fait la précipitation argentique dite *principale*. De l'aveu des auteurs eux-mêmes la proportion de purines qu'on précipite à ce moment par rapport à l'ensemble, n'est pas toujours la même. Mais cela est-il dû exclusivement, comme ils ont l'air de le croire, aux albumoses encore présentes ayant échappé à la désalbumination? Les conditions de milieu dans lesquelles on se trouve sont en réalité très mal définies, et varient d'une expérience à l'autre. Les quantités de chlorure de sodium et d'ammonium sont notamment fort variables. Il est possible qu'il se fasse suivant les cas un véritable fractionnement puisque le précipité « principal » serait, parfois, exclusivement constitué de guanine (31, p. 366).

C'est pour remédier à cette précipitation *principale* incomplète et capricieuse que les auteurs ont imaginé leur précipitation dite de *correction*. Elle consiste à se débarrasser des albumoses encore présentes dans le filtrat par l'acétate basique de plomb, et à refaire une précipitation argentique de correction pour récupérer les purines ayant échappé à la première. Pourquoi le précipité plombique d'albumoses qui ne retient pas de purines lors de la précipitation de correction en retiendrait-il au moment de la principale? Si le sous-acétate est utilisable lors de la seconde précipitation, pourquoi ne l'est-il pas dans la première? C'est ce qu'il est impossible de saisir.

Pour His et Hagen (73) la précipitation argentique des purines n'est pas complète dès qu'il y a 0,5 p. 100 d'albumoses dans le milieu, mais si la concentration est plus faible, les albumoses sont entraînées par le précipité argentique. Ces faits retirent toute valeur aux vérifications faites par Burian et Hall qui ajoutent de la guanine, de la xanthine ou de l'hypoxanthine pures à des liquides d'hydrolyse de tissus où les purines déjà présentes ont été dosées. Toute erreur *en moins* sur l'azote purique pourra être compensée par une erreur *en plus* provenant d'albumoses entraînées. Ces auteurs ont eux-mêmes senti la possibilité d'une pareille objection. Ils disent à propos d'une de leurs vérifications (p. 390) : « *L'erreur en plus sur l'azote serait due ou à l'entraî-*

nement d'une substance azotée, ou à ce que le chiffre obtenu sur le témoin, qui sert de base à l'expérience, serait trop bas lui-même. »

Il nous est impossible d'entrer davantage ici dans le détail des faits, mais une lecture approfondie des mémoires de Burian et Schur comme de Burian et Hall met en évidence :

1° L'illogisme fondamental de la méthode dont les différents temps ne s'expliquent pas de façon rationnelle ;

2° L'absence de vérifications satisfaisantes pour certains temps délicats ou fondamentaux : pas de contrôle sur des mélanges de purines pures dans des milieux d'hydrolyse ne contenant aucun de ces composés au départ ;

3° Le manque d'impartialité des auteurs chaque fois qu'il s'agit de comparer leur technique à celle de Krüger. Nous n'en voulons comme témoin que les deux faits suivants :

Pour démontrer que la méthode de Krüger donne des chiffres trop forts, Burian et Schur (28 ; p. 63) comparent les résultats obtenus par *une précipitation cuivrique* à ceux obtenus par *une précipitation argentique principale*, alors que page 65 du même travail ils déclarent la précipitation de correction *indispensable* pour avoir la totalité des purines !

Pour s'assurer que la précipitation des purines a été totale par leur méthode, Burian et Hall recherchent les purines dans le filtrat d'un de leurs essais par la méthode de Krüger. Nous nous limitons à ces inconséquences, mais nous pourrions en relever d'autres.

En un mot, si la pratique que nous en avons nous permet d'affirmer que la méthode de Burian et Hall est impraticable pour des recherches en série, nous ne sommes nullement certains qu'elle rachète sa longueur par une grande exactitude.

B. Méthode de Krüger

Les recherches de Martin Krüger (91 à 98) et de ses collaborateurs ont fait de la méthode cuivrique de précipitation des purines une méthode classique. Dans son principe, elle présente de gros avantages.

1° Elle précipite d'une façon rigoureusement quantitative *toutes les purines* (amino ; oxy ; ou méthylpurines).

2° Les combinaisons obtenues sont très stables et rigoureusement insolubles dans l'eau chaude. Les solubilités varient de 1 p. 200 000 à 1 p. 360 000 suivant les purines.

3° Les différents temps de la méthode, qu'on emploie la double cuivrique ou la cuivro-argentique, sont simples et logiques.

Nous avons dit plus haut ce que nous pensions de l'application de cette méthode à l'urine. *Thannhauser et Czoniczer* (162) ont récemment montré qu'elle était supérieure à la méthode argentique pour la recherche des purines libres du sérum : elle permet de doser exactement des quantités plus faibles de purines que la méthode argentique.

En ce qui concerne l'application aux tissus du procédé Krüger-Schittenhelm, examinons rapidement quelles expériences de contrôle ont été faites.

1° Pour libérer la totalité des purines et avoir un minimum de produits intermédiaires d'hydrolyse (peptones-albumoses, etc.) les auteurs ont progressivement augmenté la concentration de l'acide sulfurique. Ils sont passés de 10 p. 1 000 à 50 p. 1 000 [Brugsch et Schittenhelm (25)] ;

2° Toutes les recherches faites sur la précipitation quantitative des amino ou oxypurines pures sont parfaitement satisfaisantes. Krüger et Schmid (97) ont mis en évidence le peu d'influence des électrolytes (Cl Na et CH^3 COO Na) sur la précipitation ;

3° Existe-t-il des recherches systématiques montrant que des aminopurines pures ajoutées à des milieux complexes sont quantitativement retrouvées, et qu'aucune impureté azotée n'est entraînée par le précipité ?

Les recherches de comparaison de Krüger et Schittenhelm (98) ne répondent pas directement à la question posée et n'apportent pas les confirmations d'exactitude demandées. Ces auteurs ont comparé les résultats obtenus en appliquant à un même liquide d'hydrolyse, d'une part la double cuivrique ou la cuivro-

argentique, et d'autre part l'argentique *après neutralisation* par la baryte. Ils trouvent des résultats notablement plus forts par ce dernier procédé et en concluent que la baryte élimine moins d'impuretés azotées qu'une seconde précipitation cuivrique ; ils trahissent ainsi le procédé de Burian et Hall, la baryte n'étant considérée comme efficace par ces derniers qu'employée *en excès*. Fridericia (58 ; p. 91) n'a fait que quatre expériences pour vérifier si la méthode cuivro-argentique était applicable à l'objet de ses recherches. Ayant hydrolysé des œuf frais par $H^2 SO^4$ à 10 p. 1000 il ajoute au liquide d'hydrolyse des quantités variables de chlorhydrate de guanine pur et les retrouve avec une erreur moyenne et *par excès de* 10 p. 100.

En résumé si l'exactitude du procédé de Krüger est parfaitement démontrée dans le cas des purines pures ou de l'urine, il s'en faut qu'il en soit de même pour son application à tous les tissus vivants.

SÉPARATION DE L'ACIDE URIQUE

Il faudrait, nous l'avons dit, éliminer la totalité des oxypurines pour avoir un dosage exact des aminopurines. Cette séparation quantitative est un des problèmes les plus difficiles de la chimie biologique analytique. On doit évidemment exiger que l'acide urique ne compte pas dans le dosage, mais pour l'hypoxanthine, dont la formation à partir de l'adénine est toujours possible au cours des opérations analytiques (Burian et Hall), la question se pose. *A priori*, on pourrait croire que le problème peut être résolu par une extraction aqueuse initiale des purines libres. Cette séparation soulève pratiquement de grosses objections ; c'est ce qui explique pourquoi ce procédé n'est pas classique.

L'acide urique existe-t-il dans les tissus des mammifères adultes? S'il existe, dans quels organes le trouve-t-on? Depuis le travail déjà ancien de Stadthagen[1] bien peu de biochimistes

1. *Virchow's Archiv.* T. 109, p. CIX (1887).

ont repris l'étude de cette question. Pour Stadhagen, il n'y aurait pas d'acide urique dans les extraits d'organes normaux frais. Il ne trouve dans le foie et dans la rate que de la xanthine et de l'hypoxanthine. Pour Brugsch et Schittenhelm [25], l'acide urique existe dans le foie et dans le rein, tandis que V. Scaffidi (146) n'en trouve ni dans le cœur, ni dans les muscles striés ou lisses du bœuf. Steudel et Suzuki[1] ont récemment recherché l'acide urique dans les extraits d'organes par le réactif de Folin. Ils ont trouvé une substance qui se colore par l'acide phosphotungstique, qui donne la réaction de la murexide, mais qui d'après eux ne serait cependant pas de l'acide urique.

La question n'est donc pas résolue, et les chercheurs travaillant sur les tissus doivent toujours s'assurer que les purines isolées par eux ne contiennent pas d'acide urique.

Lorsque l'acide urique est présent, quels procédés employer pour sa séparation?

Les auteurs se sont en général contentés d'appliquer aux tissus les techniques préconisées à propos des urines. Jusqu'à quel point une telle homologation est-elle valable? L'analyse des urines exige la séparation d'une grosse quantité d'acide urique d'avec peu d'oxypurines; celle des tissus, la séparation d'une petite quantité d'acide urique d'avec beaucoup d'aminopurines. On comprend dès lors que l'utilisation d'une technique identique ne convienne pas dans les deux cas.

Les méthodes employées dérivent toutes du procédé initial de Salkowski où l'acide urique est isolé par cristallisation.

Krüger et Schittenhelm (98) décomposent le premier précipité cuivrique et évaporent à sec le filtrat au bain-marie. Ils reprennent par 10 cc³ d'acide chlorhydrique à 50 p. 100 et laissent reposer quelques heures. L'acide urique cristallisé est recueilli sur un petit filtre et lavé soit à l'eau pure, soit à l'eau acidulée par H^2SO^4. L'ensemble du filtrat et des eaux de lavage doit faire 80 cc³. Les aminopurines sont dosées dans le filtrat; le

1. *Zeitschr. für physiol. Chem.* T. CXIX, p. 66 (1922).

chiffre trouvé doit subir une correction correspondant à la solubilité de l'acide urique entraîné par les eaux de lavage. Une variante consisterait à détruire l'acide urique présent dans le filtrat par la technique de Krüger et Schmid (oxydation par MnO^2 à 70°) avant d'isoler les aminopurines par une seconde précipitation cuivrique.

Cette description est schématique; bien des modifications ont dû être apportées au cours des recherches par les différents auteurs. Brugsch et Schittenhelm (25) ont montré la difficulté que présentait la séparation d'une petite quantité d'acide urique en présence de proportions importantes d'aminopurines. L'acide urique cristallisé est mélangé de guanine; la séparation n'est pas intégrale même après plusieurs recristallisations suivies de l'emploi du procédé de Horbaczewski.

Nous allons décrire brièvement les expériences de contrôle que nous avons faites avant de nous arrêter à une technique définitive.

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LE DOSAGE ET L'ISOLEMENT DES AMINOPURINES

La méthode de Burian et Hall étant impraticable pour des dosages en série nous avons adopté celle de Krüger et Schittenhelm après l'avoir vérifiée temps par temps et introduit certaines modifications de détail qui nous semblaient justifiées. Si nous avons adopté la double précipitation cuivrique c'est après nous être assurés que sa précision était plus grande que celle de la cuivro-argentique.

Nos vérifications nécessitaient l'emploi de produits purs. L'acide urique employé a été obtenu par recristallisations, à l'état d'urate de soude, d'un échantillon d'acide urique pur de Kahlbaum. L'azote total déterminé par un kjeldahl correspondait exactement à l'azote purique donné par la formule : (azote trouvé = 33,30 p. 100 au lieu 33,33 p. 100, calculé)[1].

1. Nous devons l'analyse élémentaire de notre acide urique à la complaisance de M. Gerbier. Cette analyse a confirmé la pureté de notre échantillon.

Les aminopurines :

Chlorydrate de guanine. . . .	$C^5H^5N^5O$, HCl + $2H^2O$
Sulfate d'adénine.	$[C^5H^5N^5]^2H^2SO^4$, + $2H^2O$

ont été préparées selon les indications de Jones (81), à partir d'acide nucléinique pur de Böhringer. Quelques modifications apportées à la technique nous ont permis d'obtenir de meilleurs rendements. Les corps préparés étaient parfaitement cristallisés. Leur pureté fut vérifiée par une analyse élémentaire[1] ainsi que par la parfaite concordance des chiffres d'azote total et d'azote purique.

Le caractère et l'intérêt purement chimiques de ces résultats nous en font réserver l'exposé pour une autre publication.

A) Vérification des méthodes sur des solutions de purines

Nos solutions de purines étaient faites dans l'acide sulfurique à 50 p. 1000. Un échantillon était prélevé pour la détermination de l'azote total et de l'azote purique et servait de témoin à la série. L'azote était dosé par la méthode de Kjeldahl en employant le cuivre comme catalyseur, les titrations étaient faites par H^2SO^4 $\frac{N}{14}$ en présence de rouge de méthyle comme indicateur.

Qu'il s'agisse de combinaisons cuivriques ou argentiques tous nos précipités ont été bouillis en présence de MgO, avant le Kjeldahl, pour éliminer totalement l'azote ammoniacal éventuellement introduit par les réactifs[2].

a) La considération des tableaux VII et VIII montre : 1° Que la précipitation des purines par la méthode cuivrique est totale; 2° Qu'en opérant sans excès d'ammoniaque[3] on obtient également

1. M. Welter a bien voulu faire les microanalyses de nos produits par la méthode de Pregl dans l'institut de M. le professeur Nicloux.

2. La soude et l'acide sulfurique employés étaient vérifiés exempts d'azote.

3. Par excès d'ammoniaque il faut entendre qu'on a ajouté 10 cc^5 d'ammoniaque pur ou liquide avant de faire la précipitation argentique. Cet ammoniaque s'ajoute à celui de la solution de AgCl et de la mixture magnésienne.

de très bons résultats soit par le nitrate, soit par le chlorure d'argent pour le dosage de ces mêmes purines. Toutefois les chiffres obtenus par l'argent sont nettement plus faibles dans le cas de l'adénine, à cause de la légère solubilité de sa combinaison argentique.

TABLEAU VII

Précipitation des aminopurines et de l'acide urique par la méthode cuivrique simple ou double
(Résultats en milligrammes)

AMINOPURINE.	AZOTE purique introduit (calculé).	AZOTE PURIQUE RETROUVÉ.	
		Précipitation simple.	Précipitation double.
Chlorhydrate de guanine. . .	8,14	8,11	8,10
	8,14	8,12	8,12
	10,14	10.04	—
	22,20	22,1	—
Sulfate d'adénine.	8,14	8,09	8,0
	8,14	8,10	8,05
	9,88	9,84	—
	19,9	19,8	—
Acide urique.	7,6	7,5	—
	10,2	10,2	—

En opérant avec des volumes de liquide appropriés on peut encore doser exactement par la méthode cuivrique des quantités très faibles de purines. Les chiffres ci-dessous en font foi.

N purique introduit en milligr.	N purique trouvé en milligr.
3,8	3,7
4,6	4,6
6,5	6,55

Ces expériences ont été faites avec un mélange en proportions égales par rapport à l'azote purique de guanine et d'adénine.

TABLEAU VIII

Précipitation des aminopurines par les sels d'argent
(nitrate ou chlorure)
(Résultats en milligrammes)

AMINOPURINE.	AZOTE purique introduit (calculé).	AZOTE PURIQUE retrouvé.		PERTE P. 100.	
Sulfate d'adénine.	19,16	17,76	Excès de NH^3	16	par AgCl
	9,94	8,64		13	
	21,8	20,7	Pas d'excès de NH^3	5	
	10,2	9,8		4	
	9,94	9,2	Excès de NH^3	7,4	par NO^3Ag
	21,8	21,3	Pas d'excès de NH^3	2,4	
	10,2	9,8		4,2	
Chlorhydrate de guanine.	8,14	8,1	Par AgCl	»	
	10,14	10,0		»	
	22,0	21,6		»	
	10,14	10,04	Par NO^3Ag	»	
	22,0	21,08		»	

L'exactitude du procédé de Krüger est telle que sa transformation en microméthode serait faisable (Thannhauser).

b) *Action de l'hydrolyse sulfurique sur les purines.* — Toutes les méthodes de dosage des purines dans les tissus comportent une hydrolyse préalable. Il était nécessaire d'établir quelles concentrations en acide on peut employer pour leur libération sans craindre de les détruire. Nous avons pensé qu'une élévation de température permettrait peut-être d'obtenir une hydrolyse aussi complète qu'une augmentation de concentration en acide sulfurique. Nous avons donc étudié simultanément la destruction progressive des purines en fonction de l'acidité et de la température. Nos résultats sont consignés dans le tableau IX.

Les chiffres de ce tableau montrent que l'acide urique est insensible à l'action de l'acide sulfurique pour des concentrations

TABLEAU IX

Destruction des aminopurines et de l'acide urique par l'hydrolyse sulfurique

Dosage par précipitation cuivrique. — Résultats en milligrammes.

AMINOPURINE.	CONDITIONS de l'hydrolyse.	QUANTITÉ d'azote purique introduite.	QUANTITÉ d'azote purique retrouvée.	PERTE p. 100
Sulfate d'adénine	8 heures ébullition à concentration de 20 p. 1 000, puis 1 heure autoclave 110° . . .	19,8	18,8	5
	8 heures ébullition à concentration de 20 p. 1 000, puis deux heures autoclave 110° .	19,8	18,4	7,1
	8 heures ébullition à concentration de 30 p. 1 000. . . .	19,16	18,6	2,9
	8 heures ébullition à concentration de 30 p. 1 000, puis 30 minutes autoclave 110° .	9,84	9,09	7,6
	Idem mais 1 heure d'autoclave.	9,84	9,04	8,0
	8 heures ébullition à concentration de 40 p. 1 000. . . .	9,84	8,84	10,1
	8 heures ébullition à 40 p. 1 000, puis 30 minutes autoclave à 110°	9,84	8,34	15
	Idem, mais 1 heure d'autoclave	9,84	8,24	16
	8 heures ébullition à concentration de 50 p. 1 000. . . .	9,84	8,59	12,6
	8 heures ébullition à 70 p. 1 000.	9,84	8,14	17
	8 heures ébullition à 77 p. 1 000.	19,4	15,6	19
Chlorhydrate de guanine	8 heures d'ébullition à 20 p. 1 000, 1 heure autoclave 110°.	20,80	20,4	1,9
	Idem, mais 2 heures d'autoclave	20,8	20,4	1,9
	8 heures ébullition à 30 p. 1 000.	10,04	10,04	0
	8 heures ébullition à 40 p. 1 000.	10,04	9,44	6
	Idem, puis 30 minutes autoclave à 110°.	10,04	9,34	7
	Idem, mais 1 heure d'autoclave	10,04	9,34	7
	8 heures ébullition à 50 p. 1 000.	10,04	9,44	6
	8 heures ébullition à 70 p. 1 000.	10,04	9,44	6
Acide urique	8 heures ébullition à concentration 20 p. 1 000	14,1	14,1	0
	8 heures ébullition 30 p. 1 000.	14,1	14,1	0
	8 heures ébullition 40 p. 1 000.	14,1	14,1	0

variant de 20 à 40 p. 1000. L'adénine est beaucoup plus sensible à l'hydrolyse que la guanine. Pour des purines pures en solution aqueuse la perte est seulement de 3 p. 100 pour l'adénine, elle est nulle pour la guanine si on ne dépasse pas huit heures d'ébullition avec SO^4H^2 à 30 p. 1000. Ces conditions fixent les limites qu'on ne peut dépasser dans l'hydrolyse des tissus sans craindre d'altérer les aminopurines.

c) *Préparation des liquides d'hydrolyse en vue de la précipitation cuivrique.* — Toute précipitation des purines après hydrolyse comporte une neutralisation de l'acide sulfurique présent et une élimination de l'azote humique. L'emploi de la baryte (Burian et Hall) satisfait à cette double nécessité; après filtration du sulfate de baryte on obtient des liquides parfaitement décolorés.

Dans la méthode de Krüger on neutralise par la soude, puis on fait bouillir en milieu acétique pour précipiter l'azote humique. Après ce traitement, le liquide reste coloré. Nous nous sommes demandé si un traitement initial par la baryte ne permettrait pas d'obtenir dès la première précipitation cuivrique des purines débarrassées d'impuretés azotées. L'insolubilité de l'urate de baryte nous faisait espérer, d'autre part, que cette oxypurine serait éliminée par un tel traitement.

Dans une première série d'expériences nous avons fait agir la baryte pulvérisée en excès sur des solutions sulfuriques d'aminopurines pures. Après filtration et lavage du sulfate de baryte par l'eau chaude (60°), on faisait passer dans le filtrat un courant d'acide carbonique jusqu'à réaction neutre. On filtrait et lavait le carbonate, puis après concentration en milieu acétique, les dernières traces de baryte étaient enlevées par le mélange de Burian et Hall (CO^3Na^2 + NaO H). Après filtration du liquide, on faisait soit une précipitation cuivrique, soit une argentique (par AgCl) [1].

Les chiffres du tableau X nous amenèrent à penser que si la précipitation cuivrique d'ordinaire si exacte donnait des résultats

1. Opérant sur des milieux purs nous n'avions pas à envisager la précipitation de correction.

TABLEAU X

Comparaison de la méthode mixte Baryte argent et Baryte cuivre sur les aminopurines pures

(Résultats en milligrammes)

AMINOPURINE.	AZOTE PURIQUE ajouté.	AZOTE PURIQUE retrouvé.		PERTE p. 100.
Chlorhydrate de guanine.	20,5	9,1	BaOH, puis cuivrique	55,6
	20,5	16,5		18,5
	20,5	18,8	BaOH, puis AgCl	8,2
	20,5	18,9		8,1
Sulfate d'adénine.	19,9	19,9	BaOH, puis cuivrique	0
	19,16	19,1		0
	23,7	16,4		30
	23,7	17,5		26
	19,9	19,9	BaOH, puis AgCl	0
	23,7	21,5		9
	19,4	18,8		3
	19,4	18,9		2,5

absurdes dans le cas présent, les traces de baryte restant dans le milieu devaient en être la cause. Quelques expériences suffirent pour mettre en évidence l'action empêchante des sels de baryum sur la précipitation cuivrique ; on les trouvera dans le tableau XI (1).

En présence de tels résultats, il nous a fallu renoncer à l'idée séduisante d'employer la baryte avant la précipitation cuivrique.

La baryte a-t-elle du moins l'avantage de permettre une élimination quantitative de l'acide urique? Là encore, l'expérience répond négativement. En faisant agir la baryte sur des mélanges d'aminopurines et d'acide urique en proportions variables, puis en dosant dans le filtrat les purines par le chlorure d'argent, on constate que la précipitation de l'acide urique

1. On sait (Burian et Hall) que les sels de baryte en petite quantité ne gênent pas la précipitation argentique des purines.

TABLEAU XI

Action empêchante du chlorure de Baryum sur la précipitation cuivrique [1]

(Résultats en milligrammes)

AMINOPURINE.	AZOTE purique ajouté.	AZOTE purique retrouvé.	PERTE p. 100.
Chlorhydrate de guanine	20,5	2,23	88
	8,1	1,5	81
Sulfate d'adénine.	19.2	11,8	38
	7,6	3,4	55
Mélange de ces deux aminopurines en quantités égales par rapport à l'azote purique . . .	39,1	15,9	59

est irrégulière. Dès que la proportion en est considérable on le retrouve d'une manière évidente dans le précipité argentique, comme le montrent les chiffres consignés dans le tableau XII :

TABLEAU XII

	COMPOSITION DE LA SOLUTION DE PURINES en mmgr. N purique.			N PURIQUE trouvé sur le filtrat barytique par AgCl en mmgr.	
1	Sulfate d'adénine. . . .	7,8	15,6	20,7	Erreur en plus sur les aminopurines : 5,1.
	Chlorhydrate de guanine.	7,8			
	Acide urique.		14,96		
2	Sulfate d'adénine. . . .	7,8	15,6	24,8	Erreur en plus sur les aminopurines : 9,2.
	Chlorhydrate de guanine.	7,8			
	Acide urique.		79,84		
3	Sulfate d'adénine. . . .	18,96	39,02	36,5	Erreur en moins : 2,52.
	Chlorhydrate de guanine.	20,06			
	Acide urique.		3,74		

1. Les précipitations cuivriques ont été faites en présence de 2 centimètres cubes de $BaCl^2$ à 10 p. 100.

Il n'était pas intéressant pour nous d'analyser davantage ces phénomènes; la baryte ne peut servir à la séparation quantitative de l'acide urique.

Nous avons tenté de neutraliser les liquides d'hydrolyse par le carbonate de chaux. La décoloration des milieux est satisfaisante, mais le dosage des aminopurines par la méthode cuivrique échoue comme dans le cas de la baryte. Cette double constatation fait penser à une action empêchante des métaux bivalents sur la précipitation cuivrique.

Quant au noir animal employé comme décolorant, il manifeste vis-à-vis des purines un pouvoir adsorbant qui le rend inutilisable. Nos expériences sur ce point concordent avec celles de nos devanciers; dans les mélanges d'adénine et de guanine de petites quantités de noir animal adsorbaient jusqu'à 50 p. 100 des purines.

Cet ensemble d'essais nous a donc obligés à conserver la technique de Krüger Schittenhelm, tant pour la préparation des milieux que pour la précipitation cuivrique elle-même.

d) *Séparation de l'acide urique d'avec les aminopurines.* — La séparation de l'acide urique par cristallisation étant un procédé très discuté dans le cas des tissus, nous avons fait quelques essais afin de voir l'ordre de grandeur des erreurs qu'elle donne.

Nous les résumons dans le tableau XIII. Les chiffres montrent l'irrégularité des pertes selon la composition du milieu et la technique de cristallisation employée. Les résultats sont plus satisfaisants quand la séparation de l'acide urique est intercalée entre les deux cuivriques. Mais dès que la proportion d'acide urique devient petite (cas le plus fréquent dans les tissus), il faut, pour obtenir de bons résultats, faire plusieurs cristallisations rendues délicates du fait même de cette faible quantité. Le procédé perd les caractères d'une méthode analytique courante, applicable à des dosages en série. On ne peut d'ailleurs que douter en présence de ces constatations de la valeur générale du procédé [Brugsch et Schittenhelm (25)].

TABLEAU XIII

Séparation de l'acide urique d'avec les aminopurines par cristallisation

Toutes les données en mmgr. de N purique

TECHNIQUE EMPLOYÉE.	COMPOSITION DU MILIEU.	N PURIQUE trouvé après correction[1].	PERTE de purines.
			p. 100.
I. 1re précipitation cuivrique. 1 cristallisation acide urique dans 10 cc³ HCl à 10 p. 100, lavage avec 50 cc³, eau distillée. 2e cuivrique sur filtrat.	Chlorh. guanine . 10,04 / Sulfate adénine . 9,84 } 19,88 ; Acide urique 15	17,32	12,9
II. 1re cuivrique. 2 cristallisations acide urique dans 10 cc³ HCl à 10 p. 100. 2e cuivrique sur filtrats réunis.	Idem.	18,15	8,7
III. 1re cuivrique. 1 cristallisation acide urique dans HCl à 10 p. 100. 1 cristallisation selon Kossa[2]. 2e cuivrique sur filtrats réunis.	Idem.	18,61	6
IV. 2 précipitations cuivriques. 1 cristallisation acide urique dans HCl à 10 p. 100. Aminopurines sur filtrat.	Sulfate adénine . 7,8 / Chlorh. guanine . 7,8 } 15,6 ; Acide urique 14,96	13,26	15
V. 2 précipitations cuivriques. 2 cristallisations de l'acide urique dans HCl à 10 p. 100. Aminopurines sur filtrats réunis.	Sulfate adénine . 7,4 / Chlorh. guanine . 7,4 } 14,8 ; Acide urique. 7,5	12,1	18,2
VI. 2 précipitations cuivriques. 1 cristallisation acide urique dans HCl à 10 p. 100.	Sulfate adénine. . 7,4 / Chlorh. guanine . 7,4 } 14,8 ; Acide urique. 1,87	9,7	34
VII. 1 précipitation cuivrique. 2 cristallisations acide urique dans HCl à 10 p. 100. 1 Kossa. 1 précipitation cuivrique sur les filtrats réunis.	Idem.	13,76	7

1. Le chiffre d'azote trouvé pour les aminopurines subit une correction pour l'acide urique entraîné dans les eaux de lavage (pour 18 cc³ eau : 0mmgr,11 d'N, facteur de *Salkowski*). — 2. L'acide urique dissous dans une petite quantité de SO^4H^2 pur est précipité par un grand excès d'alcool à 90°. Voir Kossa (87).

Nous avons tenté sans succès de tourner ces difficultés par l'emploi du procédé de Krüger et Schmid. Pour doser dans l'urine les oxypurines à l'exclusion de l'acide urique, ces auteurs opèrent de la façon suivante : après la première précipitation cuivrique, l'acide urique est cristallisé par le procédé habituel ; mais au lieu d'appliquer sur le filtrat, la correction de Salkowski pour l'acide urique entraîné, ils oxydent cet acide urique par MnO^2, et font une deuxième précipitation cuivrique. Krüger avait montré que l'adénine en présence du sucre résiste à l'action de MnO^2. Nous avons pensé que dans des milieux riches en aminopurines et contenant peu d'acide urique, la destruction de ce dernier par MnO^2 pourrait être faite directement après la première précipitation cuivrique, ce qui éviterait les ennuis de la cristallisation. Un tel procédé s'est montré inapplicable. La suspension de MnO^2 agissant trois minutes à 70° détruit l'acide urique mais (en l'absence de sucre) attaque l'adénine, et plus encore la guanine [1].

Dans nos premières expériences, nous n'éliminions pas le MnO^2 employé ; il se trouvait dissous par le bisulfite au moment de la deuxième précipitation cuivrique. Pensant que les sels de manganèse pouvaient empêcher la seconde précipitation, nous avons, dans quelques expériences, éliminé le MnO^2 par filtration. Les pertes furent plus grandes encore, le MnO^2 manifestant pour les aminopurines un pouvoir adsorbant qui s'ajoute à l'action destructrice.

Les quelques exemples rassemblés dans le tableau XIV montrent que le procédé de Krüger et Schmid valable en présence d'oxypurines ne l'est plus en présence d'aminopurines.

Il restait à tenter l'application au cas des tissus de la méthode initiale de Hopkins et de ses variantes. Ces techniques éliminent

1. Une solution chaude de MnO^4K à 0,5 p. 100 est mélangée peu à peu avec de l'alcool, jusqu'à décoloration complète. On filtre, on lave et on remet en suspension dans l'eau en conservant le volume initial. On emploie 10 cc^3 de cette suspension rendue homogène par agitation — les purines étant en solution faiblement acétique.

TABLEAU XIV

Action destructive de la suspension de MnO^2 sur les aminopurines
($10\ cc^3$ de suspension de MnO^2 trois minutes à 75°)
Dosage par méthode cuivrique (résultats en milligr.)

AMINOPURINE.	AZOTE purique introduit.	AZOTE PURIQUE retrouvé après action du MnO^2.	PERTE pour cent.
Chlorhydrate de guanine.	8,1	5,4	33
	10,04	7,94	20,9
	10,04	8,24	17
Sulfate d'adénine. . . .	9,94	9,24	7
	8,14	7,1	12
	14,6	13,13	10

l'acide urique en le précipitant à l'état d'urate d'ammoniaque dans des conditions de milieux déterminées.

Ayant vérifié que les conditions de milieux réalisées dans le procédé de Ronchèse [1] permettent d'isoler des quantités d'acide urique plus petites que le procédé d'Hopkins nous nous y sommes arrêtés pour tous nos essais.

Nous n'avons adopté de cette méthode que les premiers temps : L'acide urique est précipité dans un milieu contenant 15 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque et 15 grammes d'ammoniaque pur pour $100\ cc^3$ [2]. L'urate d'ammoniaque recueilli après 30 minutes est lavé sur un petit filtre 2 ou 3 fois à l'aide de la solution suivante :

NH^3	150 grammes
$ClNH^4$	150 —
H^2O	Q. s. pour 1 litre

1. Ronchèse, *Guide pratique d'analyse des urines*. Baillière, édit. Paris.

2. Le volume de liquide employé dans nos essais était très réduit (25 à $50\ cc^3$, afin de diminuer les erreurs dues à la solubilité de l'urate d'ammoniaque.

Après cet isolement, nous avons opéré de la manière suivante : Le précipité d'acide urique est redissous sur le filtre par un peu de soude étendue ; la solution est neutralisée et précipitée par le cuivre. Avant le kjeldahl le précipité cuivrique est bouilli avec de la magnésie. Quand le dosage des aminopurines est seul en cause, le filtrat et les eaux de lavage de l'urate d'ammoniaque sont recueillis quantitativement, neutralisés et précipités par la méthode cuivrique.

Nous avons vérifié que la présence de sels ammoniacaux dans les proportions employées, si en elle change considérablement l'aspect, n'empêche pas la précipitation des combinaisons cuivriques d'aminopurines. On ajoutait à une solution sulfurique d'aminopurines, 15 grammes de NH^3 et 15 gr. de NH^4Cl ; on neutralisait et on faisait la précipitation cuivrique. Le précipité soigneusement lavé à l'eau chaude était bouilli avec MgO jusqu'à départ de toute trace d'ammoniaque avant le kjeldahl.

N purique introduit en milligr. [1]	N purique trouvé en milligr.	Erreur p. 100.
39,4	38,7	1,7
39,02	39	0
15,7	14,9	5
15,7	15,2	3,1

1° Avec le mélange de Ronchèse, le sulfate d'adénine ne donne au bout d'une demi-heure aucun précipité ; la guanine au contraire précipite légèrement, mais beaucoup moins si l'adénine est simultanément présente dans le milieu. Étant donné les caractères de solubilité réciproque qui se manifestent constamment chez les amino et les oxypurines, nous étions fondés à rechercher si dans des milieux contenant à la fois adénine, guanine et acide urique en proportions variables, ce dernier ne serait pas seul à précipiter par le procédé de Ronchèse. Les résultats de ces essais figurent dans le tableau XV.

1. L'adénine et la guanine étaient en quantités égales par rapport à l'azote purique dans ces mélanges.

TABLEAU XV

Séparation de l'acide urique d'avec les aminopurines par le procédé de Ronchèse

(tous les chiffres sont corrigés pour la solubilité de l'urate d'ammoniaque)

(Résultats en milligrammes)

QUANTITÉS d'azote purique introduites.	QUANTITÉS d'azote purique retrouvées après précipitation de l'acide urique (par la méthode cuivrique).	PERTES sur les aminopurines p. 100.
I. Sulfate d'adénine . . . . 43,1 Acide urique . . . . . 16,0 Filtré après 1/2 heure.	42,0	2,5
II. Sulfate d'adénine . . . . 33,8 Acide urique . . . . . 3,7 Filtré après 1/2 heure.	32,52	3,8
III. Sulfate d'adénine . . . . 33,8 Acide urique . . . . . 3,7 Filtré après 20 minutes.	33,52	0,8
IV. Chlorhydrate de guanine. 10 Sulfate d'adénine . . . . 6,9 Acide urique . . . . . 11,1 Filtré après 1/2 heure.	15,6	7,6
V. Sulfate d'adénine . . . . 10,7 Chlorhydrate de guanine. 9,7 Acide urique . . . . . 17,6 Filtré après 1/2 heure.	19,2	6
VI. Sulfate d'adénine . . . . 18,96 Chlorhydrate de guanine. 20,06 Acide urique . . . . . 3,9 Filtré après 1/2 heure.	35,74	8,5
VII. Sulfate d'adénine . . . . 7,8 Chlorhydrate de guanine. 7,8 Acide urique . . . . . 60,0 Filtré après 1/2 heure.	10,74	31

Les pertes de purines constatées permettent de considérer ces essais comme encourageants. Elles ne sont considérables que dans le cas, jamais réalisé par les tissus, où la quantité d'acide urique est énorme par rapport à celle des animopurines. Nous avons momentanément abandonné ces essais, les matériaux sur lesquels nous avions à travailler s'étant révélés à l'analyse exempts d'acide urique. Mais il est permis d'espérer que quelques modifications permettront d'appliquer cette technique au cas des tissus de l'adulte.

B) Vérification de la méthode cuivrique sur les milieux complexes

I. *Recherche des aminopurines ajoutées à des hydrolysats d'albumine d'œuf.* — On ne peut conclure d'expériences faites sur des solutions aqueuses de produits purs à ce qui se passe dans les milieux complexes réalisés par l'hydrolyse sulfurique des tissus.

Si l'on ajoute des purines à des milieux qui en contiennent déjà, puis qu'on essaie de les retrouver comme l'ont fait Burian et Hall, on doit faire un dosage témoin sur le liquide initial par *la méthode même dont l'exactitude est en cause.* Une telle façon de procéder n'est défendable que si des quantités connues de purines pures, ajoutées à des milieux analogues aux premiers *mais exempts de purines*, sont exactement retrouvées. A cet effet nous avons hydrolysé par H^2SO^4 de l'albumine d'œuf, substance qui ne contient pas de bases puriques. Le liquide filtré était fractionné. Les prises étaient additionnées de quantités connues d'aminopurines qu'on dosait après élimination de l'azote humique par les méthodes cuivrique ou cuivroargentique.

Certaines prises étaient à nouveau hydrolysées après l'adjonction des purines, afin de s'assurer que l'action de SO^4H^2 sur ces dernières restait la même, en présence des produits de dégradation des albuminoïdes, qu'en solution pure.

Les résultats de ces expériences figurent dans le tableau XVI.

TABLEAU XVI

Recherche des aminopurines dans des hydrolysats d'albumine d'œuf

Teneur des hydrolysats en N total = 1gr,87 par litre

Tous les résultats en milligrammes

COMPOSITION DES MILIEUX et teneur en azote purique[1].	AZOTE purique trouvé.	POURCENTAGE d'erreur.	MÉTHODE employée.
I. 125 cc³ d'hydrolysat (par H^2SO^4 30 p. 1 000). Sulfate d'adénine. . . . . Chlorhydrate de guanine. } 35,5	34,6	— 2,5	Double précipitation cuivrique.
II. Idem. 38,7	39,59	+ 2,3	
III. Idem. 20,1	21,4	+ 6,4	
IV. 125 cc³ d'hydrolysat (par H^2SO^4 20 p. 1 000). Sulfate d'adénine. . . . . Chlorhydrate de guanine. } 15,5	16,78	+ 8,3	
V. Idem. 8,4	8,98	+ 7	
VI. 125 cc³ d'hydrolysat (par H^2SO^4 30 p. 1 000). Sulfate d'adénine . . . . Chlorhydrate de guanine. } 20,1 L'ensemble rehydrolysé 5 h. à 30 p. 1 000 de H^2SO^4.	20,2	+ 0,4	
VII. Même expérience que ci-dessus. Sulfate d'adénine . . . . Chlorhydrate de guanine. } 14,7	14,36	— 2,3	
VIII. Même expérience que ci-dessus. Sulfate d'adénine. . . . . Chlorhydrate de guanine. } 8,4	8,54	+ 1,7	
IX. 125 cc³ d'hydrolysat (par H^2SO^4 40 p. 1 000). Sulfate d'adénine. . . . . Chlorhydrate de guanine. } 20,1	19,5	— 3	Précipitation cuivro-argentique.
X. Idem 15,5	14,22	— 8,2	
XI. Idem 42,7	41,05	— 4	
XII. 125 cc³ d'hydrolysat (par H^2SO^4 40 p. 1 000). Sulfate d'adénine. . . . . Chlorhydrate de guanine. } 20,1 L'ensemble rehydrolysé 5 h. à 30 p. 1 000 de H^2SO^4.	18,7	— 7	
XIII. Idem. 16,8	15,46	— 8	
XIV. Idem. 40,5	36,05	— 11	

1. Dans toutes ces expériences adénine et guanine sont en quantités égales par rapport à l'azote.

En ce qui concerne la méthode cuivro-argentique, on voit que toutes les expériences ont donné des erreurs *en moins;* ce fait semble *a priori* en désaccord avec les résultats de Fridericia [58, p. 91]. Cet auteur ajoutant de la guanine à des œufs entiers trouve après hydrolyse des erreurs *en plus*. La contradiction entre ces résultats et les nôtres peut tenir : 1° à la solubilité de la combinaison argentique de l'adénine présente dans nos essais; 2° au fait que Fridericia opère sur des œufs entiers et les hydrolyse par SO^4H^2 à 15 p. 1 000 seulement. Il y a donc dans ses milieux plus de produits intermédiaires d'hydrolyse susceptibles d'être entraînés par le précipité argentique.

Si on considère les résultats de la double précipitation cuivrique on voit : 1° que la quantité d'impuretés azotées présentes dans le second précipité cuivrique est d'autant plus petite que l'hydrolyse de l'albumine a été plus complète; 2° qu'il y a un jeu de compensation entre les erreurs *en plus*, dues aux impuretés azotées entraînées, et les erreurs *en moins* dues à la légère destruction des purines par l'hydrolyse.

Dans l'ensemble, les résultats obtenus par la méthode de Krüger dans de tels milieux nous semblent très satisfaisants.

II. *Vérification de la méthode cuivrique sur des liquides d'hydrolyse d'embryons.*

Lorsqu'on veut vérifier enfin la valeur de la méthode cuivrique appliquée à des hydrolysats de tissus on s'aperçoit que la complexité des milieux rend difficile l'interprétation de certains résultats.

Nos expériences précédentes ont montré qu'une hydrolyse sulfurique à 30 p. 1 000 de 8 heures altère très peu les aminopurines et qu'après une telle hydrolyse l'entraînement *d'impuretés azotées dans le précipité cuivrique* est minime. Dans le cas des tissus on peut se demander si cette concentration suffit à libérer la totalité des aminopurines engagées en combinaisons nucléiniques. Avec une hydrolyse plus énergique la quantité libérée en plus l'emporte-t-elle sur la quantité détruite?

Nos expériences ont consisté à hydrolyser à 30 p. 1 000 des em-

bryons de porc d'un stade avancé (150 mm); sur l'hydrolysat filtré on prélevait des parties aliquotes égales. Quelques-unes étaient rehydrolysées à des concentrations plus élevées, et on comparait les résultats obtenus par une double cuivrique[1]. Voici quelques chiffres :

Embryon porc de 150 mm. n° 1

Témoin : 8 heures d'hydrolyse à 30 p. 1 000. 25 mgr. 2 d'N purique.
Echantillon identique rehydrolysé 5 h. à 40 p. 1 000. 24 mgr. 2 d'N purique.
— — 5 h. à 50 p. 1 000. 26 mgr. 2 d'N purique.

Embryon de porc de 150 mm. n° 2

Témoin : hydrolysé 8 heures à 30 p. 1 000. 17 mgr. 8 d'N purique.
Echantillon identique rehydrolysé 5 h. à 40 p. 1 000. 16 mgr. 7 d'N purique.
— — 5 h. à 50 p. 1 000. 18 mgr. 1 d'N purique.

On voit qu'entre 30 et 50 p. 1 000 les chiffres obtenus en hydrolysant les embryons ne diffèrent pas sensiblement (Fridericia, *loc. cit.*). Les différences observées sont d'ailleurs d'interprétation difficile, la complexité du milieu permettant toujours d'envisager un grand nombre d'hypothèses[2]. La concentration de 50 p. 1 000 fut adoptée par Krüger et Schittenhelm à l'occasion de recherches sur les fèces où une hydrolyse énergique était indispensable. Les tissus embryonnaires, surtout dans les premiers stades du développement, s'hydrolysent totalement même avec des concentrations de 10 à 15 p. 1 000 de SO^4H^2 (Fridericia) ; la concentration moyenne de 30 p. 1 000 adoptée par nous pour tous les stades embryonnaires, avait l'avantage de *ne pas détruire les purines* et d'en assurer la libération dans tous les cas.

Le choix du procédé d'hydrolyse étant fait, il nous fallait le justifier en montrant :

1° *Avec quelles erreurs les purines pures ajoutées à des hydro-*

1. On a vérifié que dans les parties non dissoutes au cours de l'hydrolyse et retenues par le filtre avec les graisses il ne restait pas de purines libérables par une hydrolyse sulfurique à 50 p. 1000. Tous les corps générateurs de bases puriques étaient donc en solution.

2. L'emploi de l'autoclave tenté pour les essais sur des produits purs a dû être abandonné dans le cas des tissus.

lysats d'embryons se retrouvent. On hydrolyse à 30 p. 1 000 pendant huit heures un poussin de 120 grammes et on prélève sur le liquide filtré des parties égales. Sur les unes, les purines sont dosées par la méthode double cuivrique ou cuivro-argentique, dans les autres on ajoute, avant le dosage, des quantités connues de purines. Les erreurs sont calculées comme si elles portaient *exclusivement* sur les purines ajoutées. Dans le tableau XVII figurent les résultats de cet essai.

TABLEAU XVII

Recherche des aminopurines ajoutées à des fractions d'hydrolysat d'un organisme (poussin de 120 grammes).

Tous les résultats en milligrammes de N purique

	COMPOSITION DU MILIEU.	AZOTE PURIQUE trouvé.	AZOTE PURIQUE calculé.	ERREUR sur les purines ajoutées.
				p. 100.
Double cuivrique.	Témoin : 500 cc³ d'hydrolysat de poussin.	10,1	»	»
	I. 500 cc³ d'hydrolysat de poussin. Plus Sulfate d'adénine . . / Chlorhyd. de guanine. 38,7 de N purique.	47,6	48,8	— 3,1
	II. 500 cc. d'hydrolysat. Sulfate d'adénine. . . / Chlorhyd. de guanine. 15,6 de N purique.	25,31	25,7	— 2,5
	III. 500 cc³ d'hydrolysat. Sulfate d'adénine . . . / Chlorhyd. de guanine. 7,8 de N purique.	18,25	17,9	+ 4
Cuivro-argentique.	I. Témoin : 500 cc³ d'hydrolysat.	9,3	»	»
	II. 500 cc³ d'hydrolysat. Sulfate d'adénine. . . / Chlorhyd. de guanine. 38,7 de N purique.	45,7	48,0	— 6
	III. 500 cc. d'hydrolysat. Sulfate d'adénine. . . / Chlorhyd. de guanine. 15,6 de N purique.	23,03	24,9	— 12

Dans toutes ces expériences l'adénine et la guanine sont en quantités égales par rapport à l'azote purique.

2° Il fallait montrer, d'autre part, *dans quelle mesure les chiffres obtenus sur les parties aliquotes d'un même hydrolysat sont proportionnels à la grandeur de ces fractions.* A cet effet nous avons hydrolysé des souriceaux par l'acide sulfurique à 30 p. 1 000 et dosé les purines sur des fractions qui étaient entre elles comme 1, 2 et 4. Voici les chiffres obtenus.

GRANDEUR des prises en grammes.	N PURIQUE trouvé en milligrammes.	N PURIQUE CALCULÉ en fonction de la plus grande prise comme témoin.	ERREUR en pourcentage.
400	28,50	28,50	
200	14,82	29,64	+ 4
100	7,49	29,96	+ 5,1
100	7,47	29,88	+ 4,8

*
* *

Cet ensemble de résultats nous a conduits à adopter dans nos recherches sur les variations du rapport nucléoplasmatique la méthode de KRÜGER-SCHITTENHELM par double précipitation cuivrique pour le dosage des purines.

Cette méthode est loin d'être parfaite mais présente le degré d'exactitude qu'on exige couramment des méthodes de la Chimie biologique.

CHAPITRE V

DÉTERMINATION DU RAPPORT NUCLÉOPLASMATIQUE AU COURS DU DÉVELOPPEMENT CHOIX ET RÉCOLTE DES MATÉRIAUX MÉTHODES DE DOSAGES — RÉSULTATS

Une étude complète des variations du rapport nucléoplasmatique d'une espèce donnée, devrait évidemment s'étendre de l'œuf à l'adulte. Le plan est vaste ; les recherches nécessitées par une telle étude doivent être sériées en tenant compte des possibilités expérimentales.

On comprend que pour des raisons pratiques la détermination chimique du RNP soit impossible chez les mammifères durant la segmentation de l'œuf et l'organogenèse. Cette étude est encore difficile chez les oiseaux, elle demande un nombre considérable d'œufs pour les premiers stades, ce qui suppose des moyens de travail que nous n'avions pas. Il faudra s'adresser aux poïkilothermes qui pondent un très grand nombre d'œufs à développement libre. Dans quelles mesures les constatations faites chez ces espèces nous permettront-elles de combler les lacunes créées chez les animaux supérieurs par les impossibilités expérimentales signalées plus haut? C'est là une question que nous devrons ultérieurement résoudre. Mais si la vie embryonnaire des mammifères et des oiseaux est le seul temps de leur développement qui nous soit accessible, son étude constitue un tout par elle-même ; elle est la plus apte à nous fournir d'utiles enseignements sur les rapports qui lient les variations chimiques du quotient nucléoplasmatique et la grandeur de la masse active.

Nous avons étudié les variations du RNP en fonction des masses à l'aide de méthodes chimiques durant la vie embryonnaire d'un oiseau et de deux mammifères.

I. — Choix et prélèvement des embryons

Des raisons théoriques et pratiques ont guidé notre choix. Nous nous sommes arrêtés aux trois espèces suivantes : poulet, porc, souris.

1° *Poulet.* — Avec le poulet, nous avons affaire à un cas privilégié. Grâce aux recherches de Mathias Duval, Kölliker, etc. son développement est parfaitement connu. Nous avons d'autre part de précieux renseignements sur l'embryochimie, la physiologie des échanges, l'énergétique de croissance du poussin depuis les premières heures de l'incubation jusqu'à l'éclosion (Bohr et Hasselbalch (16 ; 17 ; 18) ; Hasselbalch (68) ; Tangl (160) ; Fridericia (58) ; etc.).

Cet oiseau présentait pour nous un intérêt spécial à cause de son développement rapide (21 jours) et de son cycle vital condensé. Contrairement à ce qui se passe chez beaucoup de mammifères, presque toutes les grandes fonctions physiologiques du poussin sont déjà établies à la naissance.

Du point de vue pratique, l'œuf de poule constitue un objet de recherches particulièrement bien adapté aux nécessités de l'expérimentation. On peut travailler avec un matériel très homogène en prenant des œufs d'une même race, voire d'une même poule. Il est facile de connaître avec une exactitude parfaite l'âge des embryons, et d'en recueillir simultanément un grand nombre.

Nos expériences ont été faites sur des œufs sélectionnés (c'est-à-dire de poids sensiblement égaux) et pondus par des poules consanguines de race pure (*Leghorn blanche*). L'incubation fut conduite dans une couveuse chauffée électriquement, avec les précautions d'usage, et pendant les mois de mai et juin afin de

n'avoir qu'une faible mortalité. Les dates et heures de départ des incubations étaient soigneusement notées.

Pour prélever les embryons des premiers stades on ouvrait les œufs à la lime suivant un grand axe, puis on élargissait à la pince la cavité faite. Dans les derniers jours de l'incubation on ouvrait les œufs par la chambre à air. Les membranes étaient fendues aux ciseaux ; on liait la vésicule ombilicale près du corps à l'aide d'un fil fin ; on coupait ensuite près de la ligature.

Les embryons étaient alors lavés à l'eau salée et séchés sur du papier filtre [1] puis pesés dans des vases tarés bouchant à l'émeri. Ils étaient ensuite hachés aux ciseaux et conservés dans un excès d'alcool à 96° jusqu'au moment du dosage.

Dans les stades avancés (à partir du 17e jour) on vidait par pression le cloaque des excréments riches en acide urique qu'il pouvait contenir ; on se débarrassait également de la vésicule ombilicale et de son contenu dès qu'elle commençait à pénétrer dans l'ombilic.

Il est particulièrement facile d'éliminer dans le cas du poulet, les embryons morts ou d'un poids anormal par rapport à la moyenne de chaque série.

Comme on le voit d'après la description de notre procédé, *nous avons prélevé l'embryon sans ses membranes* et il en a été de même pour tous nos embryons de mammifères. Cette exclusion systématique demande quelques explications. Il y a chez le poulet trois membranes : *l'amnios*, membrane mince, sans vaisseaux, qui imprime à l'embryon un mouvement pendulaire à partir du 6e jour, grâce à ses contractions rythmiques ; *l'allantoïde*, richement vascularisée, en rapport avec la chambre à air et qui joue le rôle d'un organe respiratoire ; enfin la paroi de la vésicule ombilicale (sac vitellin) très vascularisée et qui prend une part active à la nutrition de l'embryon en assurant la résorption du deutoplasme. Ces membranes font partie de l'embryon dont elles constituent des annexes. Leur élimination arbitraire sacrifie des

1. Ce temps est très important, comme nous le verrons, à partir du 11e jour où il existe de l'acide urique dans le liquide amniotique (Fridericia).

tissus destinés il est vrai à une atrophie ultérieure, mais qui jouent un rôle actif dans les premiers stades du développement. La paroi de la vésicule ombilicale donne en effet naissance aux éléments figurés du sang.

Quelles sont donc les raisons qui nous ont dicté cette élimination ? S'il est facile de prélever l'amnios et l'allantoïde, il est à peu près impossible de séparer la paroi de la vésicule ombilicale du deutoplasme qu'elle contient. Elle est si fragile qu'un jet de pissette la déchire. Nous ne pouvions la prendre qu'à condition de la *séparer totalement du vitellus* qu'elle contient, sous peine de fausser nos chiffres d'azote[1]. Comme à d'autres expérimentateurs (Hasselbalch (68) cette séparation nous fut impossible.

Cette première difficulté n'était pas la seule. Fridericia (58) ayant montré que le corps de l'embryon ne contient pas d'acide urique et que cette oxypurine est localisée dans les liquides embryonnaires, il aurait fallu laver ces membranes et les sécher pour les débarrasser totalement d'acide urique avant la pesée. Les excréments solides adhèrent tellement à la paroi interne de l'allantoïde que leur élimination est impraticable. Nous risquions en prenant les membranes d'introduire dans nos dosages, une oxypurine difficile à séparer d'avec les aminopurines représentatives du noyau et dont la présence pouvait retirer toute signification à nos expériences.

De toutes façons, l'impossibilité où nous nous trouvions de recueillir intégralement la paroi de la vésicule ombilicale, intéressante entre toutes à cause de son activité formatrice, nous obligeait à choisir entre deux solutions : ou ne recueillir *qu'en partie* les membranes en risquant de fausser nos dosages, ou sacrifier totalement ces membranes pour avoir une image fidèle du RNP chimique dans le corps de l'embryon.

Nous avons donc résolument sacrifié les membranes, et nous avons fait de même pour les embryons de mammifères afin de

1. Le vitellus ne peut pas plus être considéré comme faisant partie de l'embryon que l'albumine d'œuf elle-même.

conserver à nos recherches un caractère comparatif. Aussi bien, les difficultés créées chez ceux-ci par la question du placenta nous auraient imposé une telle technique.

2° *Porc.* — Outre d'impérieuses nécessités chimiques sur lesquelles nous reviendrons, des raisons pratiques nous ont poussé à étudier la vie embryonnaire du porc. On peut se procurer durant toute l'année ou presque des utérus gravides de truie. Le nombre d'embryons présents dans chaque utérus est considérable; il atteint fréquemment 17. Ceci permet de recueillir rapidement un nombre d'exemplaires suffisants pour l'étude des premiers stades. La taille des fœtus est telle, qu'une étude chimique du RNP devient possible à des stades assez précoces du développement sur les organes considérés individuellement. C'est un avantage que contrebalancent les difficultés du dosage sur l'embryon entier vers la fin de la vie intra-utérine. En dépit d'une technique appropriée, ces dosages sont laborieux sur des animaux pesant plus d'un kilogramme.

Comme les embryologistes sont plus spécialement intéressés par l'étude des tout premiers stades et de l'organogenèse, nous n'avons pas de données concernant les équivalences : âges, longueurs, poids, pour toute la vie embryonnaire du porc qui est longue [123 jours]. Les tables de Keibel (85) étaient insuffisantes de ce point de vue, et nous avons dû combler les lacunes de notre documentation par l'emploi de procédés sur lesquels nous aurons à revenir. La longueur même de l'évolution intra-utérine dans cette espèce la rendait pour nous particulièrement intéressante. Les bovidés sont rapidement inutilisables à cause de leur poids, et nous n'avions pas au début de ces recherches la possibilité de nous procurer des embryons humains. Ces derniers sont sans nul doute les plus intéressants.

Les utérus gravides nous étaient apportés directement de l'abattoir et le prélèvement des fœtus se faisait une demi-heure environ après l'abatage.

On ligaturait le cordon ombilical des embryons débarrassés de leurs membranes pour éviter les pertes de sang. Les fœtus

étaient séchés soigneusement par du papier à filtre, mesurés au compas (du sommet du crâne à la première vertèbre caudale), puis pesés. Il arrive fréquemment que dans un même utérus, certains fœtus s'écartent notablement de la moyenne des poids ou des longueurs trouvés pour l'ensemble. Ces animaux étaient rejetés.

Les embryons pesés étaient broyés puis placés dans un excès d'alcool à 96° où on les conservait jusqu'au moment du dosage.

3° *Souris blanche.* — Le cycle de développement de ces petits mammifères, voisin de celui du poulet (21 jours) s'oppose par sa brièveté à celui du porc. Mais contrairement à ce qui se passe pour l'oiseau, le jeune est à la naissance dans un état encore bien imparfait.

Nous n'avons malheureusement pas de documents établissant les concordances : âge, longueur, poids pour les fœtus de cette espèce, et le coït ne peut être observé facilement par l'expérimentateur comme chez le lapin. La petitesse des embryons rend l'étude des premiers stades du développement difficile en l'absence de microméthodes ; leur forme très incurvée gêne la détermination précise des longueurs. Ces raisons nous ont obligé à prendre les poids comme caractéristique de l'âge.

Pour le prélèvement, les femelles étaient tuées par chloroformisation, les fœtus, recueillis avec les mêmes précautions que pour le porc, étaient pesés au milligramme près. Les souriceaux sur lesquels on a fait des déterminations après la naissance n'étaient pesés qu'après évacuation provoquée de la vessie. L'estomac était débarrassé de son contenu, l'intestin aussi dans la mesure du possible. On les conservait dans l'alcool à 96° après broyage.

***

II. — Technique suivie dans les dosages

1° *Evaporation de l'alcool et hydrolyse.* — Les embryons hachés et l'alcool de conservation sont introduits quantitative-

ment dans un ballon de grandeur appropriée au volume d'acide sulfurique dilué qu'il sera nécessaire d'employer pour l'hydrolyse. L'alcool est distillé au bain-marie en s'aidant du vide. Les dernières traces d'alcool sont chassées par l'emploi d'un vide élevé ; s'il en restait, on aurait des mousses au début de l'hydrolyse.

On introduit alors dans le ballon un volume d'acide sulfurique à 30 p. 1000 tel qu'on ait une proportion d'environ 1 litre par 100 grammes de tissu, proportion qui constitue un minimum. La présence de 3 à 4 clochettes de verre est indispensable pour régulariser l'ébullition. L'hydrolyse est assurée par une ébullition de 8 heures dans un ballon muni d'un réfrigérant à reflux. Elle se fait au bain d'huile dès que le volume d'acide dépasse 1 litre et demi, et à l'aide d'un entonnoir de *Babo* s'il est plus faible.

L'hydrolyse commencée ne doit jamais être interrompue si l'on veut éviter les soubresauts et la casse souvent provoqués par une remise en marche.

2° *Détermination par le Kjeldahl de l'azote hydrolysé* (*NH*) *de l'azote non hydrolysé* (*NR*) *et de l'azote total* (*NT*) *dans les liquides d'hydrolyse.* — L'hydrolyse terminée, le liquide encore chaud est filtré sur filtre à plis. Deux cas peuvent se présenter suivant que l'on a affaire à des embryons pesant au plus 150 grammes, ou au contraire à des animaux plus gros (cas du porc) c'est-à-dire fournissant plus ou moins de résidus d'hydrolyse. Inutile de dire que ces distinctions n'ont rien d'absolu ; le chiffre de 150 grammes est approximatif ; l'espèce animale, la richesse des fœtus en graisse peuvent le faire changer. Ce qu'il faut retenir c'est que la technique ne peut être rigoureusement la même quelle que soit la quantité de tissus sur laquelle on travaille.

A). *Quantités de tissus ne dépassant pas 150 grammes.* — Le liquide d'hydrolyse est filtré sur un filtre à plis de 15 centimètres de diamètre[1] sans cendres. Le filtrat sera recueilli dans un bécher à bec, taré, de 1 litre. La petite quantité de matière non

1. On prendra de préférence le 597 Schleicher ; à défaut, le Durieux 121 est recommandable (plus résistant mais un peu moins rapide).

hydrolysée et de graisses retenue est avée plusieurs fois sur le filtre avec de l'eau bouillante acidulée (2 à 3 p. 1000 de H^2SO^4). On s'arrête quand l'eau passe incolore. Tous ces liquides de lavage sont reçus dans le même bécher que le filtrat principal.

A ce moment, on a dans le bécher la totalité NH de l'azote hydrolysé et sur le filtre, la totalité NR de l'azote non hydrolysé[1].

a) *Dosage de NR.* — On introduit le filtre et son contenu dans un matras à Kjeldahl de 800 cc^3 avec 40 cc^3 d'acide sulfurique pur (vérifié exempt d'azote ammoniacal) un cristal de Cu^2SO^4 comme catalyseur, puis un gramme de $KHSO^4$ pur fondu si on veut accélérer la combustion. L'azote sera dosé par distillation.

b) *Dosage de NH.* — L'azote hydrolysé sera déterminé sur une partie aliquote du liquide d'hydrolyse filtré, le reste servant au dosage de l'azote purique.

Le contenu du bécher taré est homogénéisé, puis abandonné jusqu'à ce qu'il ait repris la température de 15°. On pèse à ce moment[2]; on a le poids de l'ensemble du liquide. On prélève à l'aide d'une pipette une partie aliquote (30 à 50 cc^3), son poids est obtenu par différence en pesant à nouveau le bécher. Cette fraction est introduite dans un matras de 150 cc^3 avec 10 cc^3 de H^2SO^4 pur; l'azote dosé par un Kjeldahl donne un chiffre qui permet de calculer le total de NH. La somme NR + NH donne l'azote total ou NT.

B) *Quantités de tissus dépassant 150 grammes.* — La technique doit être modifiée dès qu'il y a beaucoup de résidus non hydrolysés ou de graisses.

a bis) *Dosage de NR.* — Le liquide d'hydrolyse encore chaud est filtré sur de grands filtres sans plis de 20 ou 25 centimètres de diamètre[3].

On lave plusieurs fois à l'eau bouillante acidulée le résidu

1. NR signifie azote résiduel.

2. Toutes nos pesées ont été faites avec une balance qui répondait nettement à des différences de 50 milligrammes sous une charge de 2 kilogrammes.

3. Papier Durieux 121 sans cendres.

restant sur le filtre; les eaux de lavage sont reçues avec le filtrat principal dans de grands vases tarés. On crève ensuite le filtre avec un agitateur, et on fait passer graisses et résidus dans une capsule de porcelaine à l'aide d'un jet de pissette à eau bouillante[1]. On lave dans la capsule par agitation avec de l'eau acidulée chaude. On filtre à nouveau comme précédemment; on renouvelle encore une fois ces opérations pour avoir un filtrat incolore.

Toutes les eaux de lavage sont quantitativement réunies au filtrat principal. On fait passer le résidu lavé dans des matras à Kjeldahl de 800 cc^3 à l'aide d'eau bouillante; le nombre de matras à employer varie avec la quantité de substance à détruire.

Ces matras sont chauffés à l'ébullition, pour chasser la plus grande partie de l'eau, après adjonction de clochettes de verre. On laisse refroidir; on ajoute les quantités d'acide sulfurique nécessaires à la destruction des matières organiques. On recommence à chauffer avec prudence pour franchir le stade des mousses toujours dangereux quand il y a beaucoup de graisses à détruire. Dès qu'il ne se produit plus de mousses, on ajoute $Cu\,SO^4$ et $KHSO^4$; on chauffe plus énergiquement.

On laisse refroidir les matras après décoloration; leurs contenus étendus d'eau sont transvasés dans un grand vase taré; on pèse après refroidissement. Une partie aliquote correspondant au maximum à 20 cc^3 d'H^2SO^4 pur est prélevée par pesée. On en dose l'azote par distillation. Le calcul donne l'azote résiduel total ou NR^2.

b bis). *Dosage de NH.* — Cette détermination se fait comme dans le cas des petits embryons, à quelques différences de détail près.

Les volumes de liquide d'hydrolyse de 2 à 6 litres sont pesés

1. On évite de déchirer le filtre, qui se lave très bien, pour ne pas augmenter la quantité de matières organiques à détruire.

2. Cette technique laborieuse chez les embryons de 25 à 32 centimètres est rendue nécessaire par l'impossibilité de faire des prises sur le résidu d'hydrolyse, qui n'est pas homogène.

par fractions de 1,5 kgr; on rend homogène; on prélève par pesée une partie aliquote pour le dosage de NH, et une autre pour la détermination de l'azote purique (NP). Le calcul donne facilement le NH total; la prise faite pour ce dosage doit être assez forte pour éviter les inconvénients de la multiplication d'une erreur expérimentale éventuelle.

Il est prudent, dans le cas des gros embryons, de conduire rapidement les opérations de prélèvement pour les dosages de NH et de NP. Si l'on attend, on a des cristallisations de tyrosine, ou de $CaSO^4$ provenant du squelette, et l'homogénéisation du liquide devient impossible.

3° *Détermination de l'azote purique NP.* — Autant que possible on évitera de faire des déterminations d'azote purique sur des quantités inférieures à 6 ou 7 milligrammes, ou supérieures à 25 ou 30. On sera donc conduit suivant les cas, à faire le dosage sur tout ou partie du liquide d'hydrolyse restant après la prise faite pour déterminer NH. Les parties aliquotes sont toujours prélevées par pesée. Un calcul simple donne l'azote purique total.

I. *Élimination de l'azote humique.* — La portion de liquide d'hydrolyse dans laquelle on veut déterminer NP, recueillie dans une capsule de porcelaine à fond plat est exactement neutralisée par la soude à 40 p. 100. On dépasse ensuite d'une ou deux gouttes; on ajoute 5 cc^3 d'acide acétique à 10 p. 100 et on porte deux minutes à l'ébullition. L'azote humique coagule en flocons. On chauffe la capsule au bain-marie bouillant, jusqu'à ce que l'évaporation ait réduit le volume du liquide[1]. On filtre alors l'azote humique sur un petit filtre à plis de 15 centimètres de diamètre (597 Schleicher). Le filtrat est reçu dans une autre capsule.

Si l'azote humique est peu abondant, on se contente de le laver sur le filtre avec une solution chaude de sulfate de soude

1. Cette réduction doit être calculée pour arriver au moment de la précipitation cuivrique à un volume maximum de 800 cc^3 pour 100 grammes d'organe.

concentrée, acidulée par l'acide acétique afin d'éviter la redissolution partielle.

Si l'azote humique est en quantité importante (embryons de plusieurs centaines de grammes) on fait passer le filtre qui le contient dans une petite capsule contenant de l'eau chaude. On dilacère le filtre, on redissout le précipité dans l'eau chaude légèrement alcalinisée par la soude; après adjonction de quelques centimètres cubes de sulfate de soude saturé, on acidule par CH^3 COOH et on précipite à nouveau l'azote humique par ébullition. Le filtrat est réuni au liquide principal.

Cette reprécipitation a pour but de récupérer l'azote purique entraîné éventuellement par l'azote humique.

II. *Précipitation de l'azote purique.*

α *Par double précipitation cuivrique.* — Le liquide débarrassé d'azote humique est neutralisé par la soude en dépassant *très légèrement*. On ajoute autant de fois 10 cc^3 de bisulfite de soude pur à 30 p. 100 qu'il y a de fois 100 cc^3. On porte à l'ébullition ; on verse un volume de Cu SO^4 à 10 p. 100 égal à celui du bisulfite employé. On laisse bouillir deux minutes en agitant constamment pour empêcher les soubresauts. Le précipité se forme rapidement, puis se dépose, mélangé d'oxydule. On filtre alors sur filtre à plis[1] ; avec de l'eau bouillante on fait peu à peu passer la totalité du précipité sur le filtre ; on le lave plusieurs fois. Ces lavages ont pour but d'enlever l'excès de Cu SO^4 et de débarrasser le précipité des impuretés azotées.

Quand l'eau passe incolore, on remet le filtre et son contenu dans la capsule où a eu lieu la précipitation avec 200 cc^3 d'eau bouillante. On ajoute 35 à 40 cc^3 de sulfure de sodium préparé comme il a été indiqué[2]. On chauffe une minute vers 70-80° en dilacérant le filtre avec un agitateur, et on s'assure avec un papier à l'acétate de plomb que la précipitation a été totale.

1. On s'assure toujours sur le filtrat que la précipitation a été complète. On emploie comme filtre le n° 597 Schleicher de 180 millimètres de diamètre sans cendres.

2. Voir page 51.

On acidifie nettement par quelques centimètres cubes d'acide acétique à 10 p. 100 et l'on fait bouillir deux minutes en agitant constamment pour rassembler le sulfure de cuivre.

On filtre ensuite en s'aidant d'un faible vide sur un entonnoir de Buchner; on lave plusieurs fois à l'eau bouillante en exprimant avec soin le papier du filtre sur l'entonnoir.

Le filtrat est transvasé quantitativement dans une capsule de porcelaine, puis concentré au bain-marie pour chasser H^2S et rassembler le sulfure de cuivre colloïdal. On filtre ensuite dans une capsule de 250 cc^3 sur un petit filtre sans plis (de 9 centimètres de diamètre) à l'aide d'un entonnoir de Joulie. On lave le filtre à l'eau distillée.

Le liquide limpide ne doit pas faire plus de 150 cc^3; on fait une seconde précipitation cuivrique en suivant les mêmes indications que pour la première.

Le second précipité cuivrique recueilli sur filtre à plis, est lavé comme ci-dessus à l'eau bouillante, puis introduit dans un matras de 800 cc^3 avec de l'eau (150 cc^3) et 0 gr. 5 de magnésie lourde calcinée[1]. On porte quelques minutes à l'ébullition pour chasser les traces de NH^3 éventuellement présentes. On évapore un peu l'eau; on laisse refroidir, on ajoute 40 cc^3 de H^2SO^4 pur et un cristal de $CuSO^4$.

On dose l'azote par le Kjeldahl; le calcul donne l'azote purique pour l'embryon entier.

β *Par précipitation cuivro-argentique.* — Le liquide obtenu comme pour faire une seconde cuivrique est concentré à 50 cc^3, puis précipité par NO^3Ag selon Krüger et Schmid, ainsi qu'il a été décrit plus haut[2]. La suite des opérations ne comporte pas de variantes.

Tous nos Kjeldahl ont été faits en présence de $CuSO^4$ comme catalyseur. Nous avons suivi les indications de l'école danoise, c'est-à-dire qu'on a toujours prolongé le chauffage deux heures

1. Ne pas dépasser cette quantité; le SO^4Mg insoluble dans H^2SO^4 donnerait des soubresauts à la fin du Kjeldahl.

2. Voir page 52.

après la décoloration. Les distillations étaient faites dans les matras mêmes où avait eu lieu la combustion pour éviter les transvasements. Les titrations d'ammoniac par l'acide sulfurique $\frac{N}{7}$ ou $\frac{N}{14}$ selon les cas[1], comportaient l'emploi de rouge de méthyle comme indicateur.

Séparation de l'acide urique d'avec les aminopurines. — Fridericia (58) ayant montré l'absence totale d'acide urique dans le corps des embryons de poulet, la question de sa séparation d'avec les aminopurines ne se posait pas avant la naissance pour cet animal. *Mais y a-t-il de l'acide urique dans l'embryon des mammifères?* L'état de nos connaissances sur le métabolisme des purines chez l'embryon permettait d'en douter *a priori*.

Les recherches de Jones et Austrian (80) ont montré que dans le foie des embryons de porc il n'y avait pas, durant les premiers stades, de ferments agissant sur l'acide nucléinique. Chez le fœtus de 160 millimètres on voit apparaître l'adénase; à 230 millimètres il n'y a encore ni xanthinoxydase, ni uricase. La xanthinoxydase n'apparaît selon ces auteurs qu'après la naissance. Ils n'ont rencontré de guanase ni dans le foie du fœtus ni dans celui de l'adulte.

L. B. Mendel et Mitchell[2] admettent l'existence de la guanase chez l'embryon de porc ailleurs que dans le foie. Mais les extraits d'organes ne forment pas d'acide urique à partir d'aminopurines libres; il n'y a que désamidation, la xanthinoxydase n'existe pas dans les organes embryonnaires. Elle n'apparaîtrait suivant ces auteurs que dans les tout derniers stades ou même après la naissance.

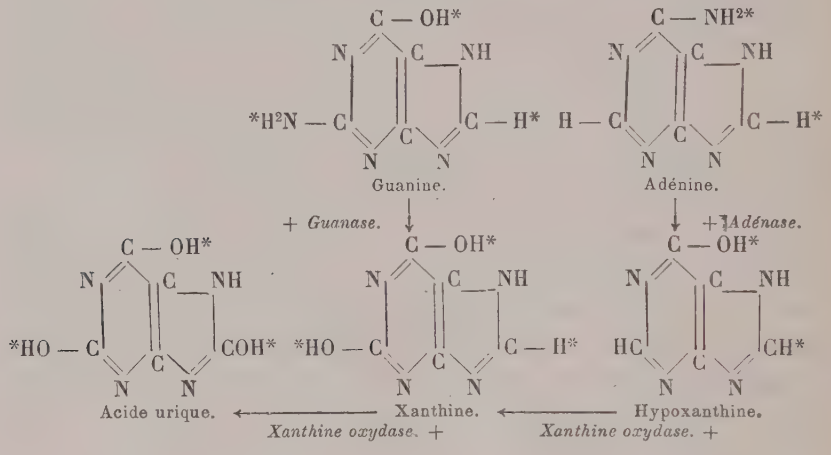
Ces conclusions sont en accord avec celles de G. H. Wells et H. J. Corper (167) qui ont travaillé sur l'embryon humain. Dans cette espèce animale les ferments oxydants des purines

1. L'emploi d'acide $\frac{N}{7}$ ou $\frac{N}{14}$ simplifiait beaucoup les calculs.

2. L. B. Mendel et P. H. Mitchell, 1907-1908. The enzymes involved in the purine metabolism in the embryo (*Amer. Jour. of Physiol.*, t. XX, p. 97).

n'apparaissent également que très tard (fœtus de 8 mois et demi).

Puisque les auteurs n'ont pu mettre en évidence, durant la vie embryonnaire, la présence de xanthinoxydase, nous pouvons conclure étant donné le schéma de la formation de l'acide urique à partir des aminopurines qu'il n'y a pas d'acide urique chez le porc jusqu'aux tout derniers stades. Nous rappelons pour mémoire la genèse des oxypurines à partir des aminopurines :



Nos expériences personnelles sont tout à fait en accord avec les expériences des auteurs cités : nous n'avons jamais pu déceler d'acide urique chez le porc avant 280 millimètres. Après ce stade on n'en trouve d'ailleurs que des traces. De même chez la souris, nos essais qualitatifs nous ont donné des résultats négatifs.

L'adénase apparaissant dans le fœtus de porc vers 160 millimètres, il est possible de trouver, à partir de ce stade, de l'hypoxanthine comme permet de le comprendre le schéma ci-dessus.

De même, chez le poussin, les expériences de L. Mendel et Leavenworth (116) permettent de penser que l'adénase apparaît au 11e jour de l'incubation puisqu'ils trouvent de l'hypoxanthine dans les purines totales de *l'œuf entier*, à partir de ce stade. *A aucun moment cette oxypurine ne fait plus de 4 p. 100 des*

purines totales; étant donné ce faible pourcentage nous l'avons négligée dans nos expériences, aussi bien chez le porc que chez le poussin. Dès son apparition nos chiffres de RNP chimique peuvent se trouver majorés, mais dans une proportion si faible qu'elle n'infirme en rien la valeur de nos résultats, ni ne cache la chute du rapport établie par nous.

Pour conclure, nous pouvons affirmer que jusqu'au 11e jour chez le poussin, jusqu'au stade 160 millimètres chez le porc, nos chiffres ne sont passibles d'aucune correction. L'erreur possible due pour les stades ultérieurs à la présence d'hypoxanthine reste très minime.

III. — Résultats expérimentaux.

Nous allons donner ici les résultats expérimentaux concernant chaque espèce animale, ainsi que les tableaux récapitulant ces résultats. Les protocoles seront exposés de la façon suivante : 1° les caractéristiques du stade embryonnaire étudié ; 2° le nombre et le poids moyen des embryons utilisés avec la quantité de H^2SO^4 à 30 p. 1 000 employée pour l'hydrolyse; 3° le poids de l'ensemble du liquide d'hydrolyse et des eaux de lavage, et ceux des prises pour la détermination de NH et de NP; 4° les chiffres trouvés et calculés pour l'azote non hydrolysé, hydrolysé, purique et total. Enfin, sous la rubrique *calculs* on trouvera les valeurs de ces différentes formes d'azote par embryon et pour 100 grammes frais; la quantité d'azote non hydrolysé (NR) p. 100 d'azote total (NT); les rapports nucléoplasmatiques en fonction de NH et de NT.

POULET

Expérience n° 1 : embryons du 5e jour

Données expérimentales :

23 embryons : poids total, 5 gr. 778 ; poids moyen, 0 gr. 251.
Hydrolyse par 300 cc³ SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 489 gr. 75.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 150 gr.
NP n'a pas été fait.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 1 mmgr.
NH trouvé pour la prise, 10 mmgr., soit pour l'ensemble :

$$\frac{10 \times 489{,}75}{150} = 32 \text{ mmgr. } 65$$

NT : 1 mmgr. + 32 mmgr. 65 = 33 mmgr. 65.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH . . .	1,419	565
NT . . .	1,46	582

NR pour 100 de NT, 2,92.

Expérience n° 2 : embryons du 8e jour

Données expérimentales :

18 embryons : poids total, 16 gr. 382 ; poids moyen, 0 gr. 910.
Hydrolysé par 600 cc³ SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 976 gr. 8.
Poids de la prise pour détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 926 gr. 8.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 3 mmgr.
NH trouvé, 5 mmgr. 2 ; calculé pour l'ensemble, 101 mmgr. 58.
NP trouvé, 9 mmgr. 6 ; calculé pour l'ensemble, 10 mmgr. 11.
NT : 3 mmgr. + 101 mmgr. 58 = 104 mmgr. 58.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,561	61,6
NH. . .	5,64	620,0
NT. . .	5,81	638,6

NR pour 100 de NT, 2,8.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 11,05 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 10,7$$

Expérience n° 3 : embryons du 9e jour

Données expérimentales :

10 embryons : poids total, 13 gr. 50; poids moyen, 1 gr. 35.
Hydrolyse par 800 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1880 gr.
Poids de la prise pour détermination de NH, 120 gr.
— — de NP, 1 758 gr. 3.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 2 mmgr. 4.
NH trouvé, 4 mmgr. 83; calculé pour l'ensemble, 75 mmgr. 67.
NP trouvé, 6 mmgr. 36; calculé pour l'ensemble, 6 mmgr. 8.
NT : 2 mmgr. 4 + 75 mmgr. 67 = 78 mmgr. 07.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,68	50,3
NH. . .	7,56	560,5
NT. . .	7,80	579,0

NR pour 100 de NT, 3,0.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 9,8 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 9,54$$

Expérience n° 4 : embryons du 11e jour

Données expérimentales :

8 embryons : poids total, 19 gr. 981; poids moyen, 2 gr. 497.
Hydrolyse par 600 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1 000.
Poids du liquide total, 793 gr. 9.
Poids de la prise pour détermination de NH, 50 gr.
Poids — — de NP, 743 gr. 9.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 5 mmgr. 1.
NH trouvé, 9 mmgr. 16; calculé pour l'ensemble, 145 mmgr. 4.
NP trouvé, 10 mmgr.; calculé pour l'ensemble, 10 mmgr. 67.
NT : 5 mmgr. 1 + 145 mmgr. 4 = 150 mmgr. 5.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,33	53,4
NH. . .	18,17	727,1
NT. . .	18,8	752,7

NR pour 100 de NT, 3,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,9 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,6$$

Expérience n° 5 : embryons du 13e jour

Données expérimentales :

3 embryons : poids total, 17 gr. 083; poids moyen, 5 gr. 694.
Hydrolyse par 650 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids du liquide total, 1 056 gr. 55.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1 026 gr. 55.

Résultats :

NR de l'ensemble, 7 mmgr. 8.
NH trouvé, 7 mmgr. 8; calculé pour l'ensemble, 164 mmgr. 82.
NP trouvé, 10 mmgr. 88; calculé pour l'ensemble, 11 mmgr. 42.
NT : 7 mmgr. 8 + 164 mmgr. 82 = 172 mmgr. 62.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	3,80	66,8
NH. . .	54,94	964,0
NT. . .	57,54	1010,4

NR pour 100 de NT, 4,5.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,44 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,08$$

Expérience n° 6 : embryons du 14e jour

Données expérimentales :

6 embryons : poids total, 47 gr. 100; poids moyen, 7 gr. 85.
Hydrolyse par 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 130 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH. 30 gr.
— — de NP, 2 100 gr.

Résultats :

NB pour l'ensemble, 25 mmgr. 16.
NH trouvé 7 mmgr. 88, calculé pour l'ensemble, 559 mmgr. 48.
NP trouvé, 33 mmgr. 12; calculé pour l'ensemble, 33 mmgr. 6.
NT : 25 mmgr. 16 + 559 mmgr. 48 = 584 mmgr. 64.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	5,6	71,3
NH. . .	93,24	1 187
NT. . .	97,44	1 241

NR pour 100 de NT, 4,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6{,}38 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6{,}09$$

Expérience n° 7 : embryons du 15e jour

Données expérimentales :

2 embryons : poids total, 22 gr. 318; poids moyen, 11 gr. 159.
Hydrolyse par 850 cc³ de SO^4H^2 de 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 103 gr. 75.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 1 073 gr. 75.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 15 mmgr. 2.
NH trouvé, 8 mmgr. 77; calculé pour l'ensemble, 322 mmgr. 66.
NP trouvé, 17 mmgr. 1; calculé pour l'ensemble 17 mmgr. 57.
NT : 15 mmgr. 2 + 322 mmgr. 66 = 337 mmgr. 86.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	8,78	78,7
NH. . .	161,33	1 445,7
NT. . .	168,93	1 513,8

NR pour 100 de NT, 4,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 5,7 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 5,4$$

Expérience n° 8 : embryon du 16e jour

Données expérimentales :

1 embryon : poids 13 gr. 0.
Hydrolysé par 550 cc³ SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 715 gr. 35.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 685 gr. 35.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 13 mmgr. 5.
NH pour la prise, 9 mmgr.; pour l'ensemble, 214 mmgr. 6.
NP pour la prise, 8 mmgr. 8; pour l'ensemble, 9 mmgr. 18.
NT : 13 mmgr. 5 + 214 mmgr. 6 = 228 mmgr. 10.

Calculs :

	Par embryon.	Par 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	9,18	70,6
NH. . .	214,60	1 650,7
NT. . .	228,10	1 754,6

NR pour 100 de NT, 5,9.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,46 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,19$$

Expérience n° 9 : embryon du 16e jour

Données expérimentales :

1 embryon : poids 14 gr. 22.
Hydrolysé par 450 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids du liquide total, 551 gr. 7.
Poids de la prise pour NH, 30 gr.
Poids de la prise pour NP, 521 gr. 7.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 14 mmgr. 13.
NH trouvé pour la prise, 12 mmgr. 50; pour l'ensemble, 229 mmgr. 87.
NP perdu.
NT : 14 mmgr. 13 + 229 mmgr. 87 = 244 mmgr. 0.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	229,87	1 616
NT. . .	244,0	1 715

NR pour 100 de NT, 5,7.

Expérience n° 10 : embryon du 17e jour

Données expérimentales :

1 embryon : 14 gr. 226.
Hydrolysé par 450 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 629 gr. 15.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 599 gr. 15.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 10 mmgr. 6.
NH trouvé pour la prise, 11 mmgr. 17; calculé pour l'ensemble, 234 mmgr. 28.
NP trouvé pour la prise, 10 mmgr.; calculé pour l'ensemble, 10 mmgr. 5.
NT : 10 mmgr. 6 + 234 mmgr. 28 = 244 mmgr. 88.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	10,5	73,8
NH. . .	234,28	1 646
NT. . .	244,88	1 721

NR pour 100 de NT, 4,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,6 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,4$$

Expérience n° 11 : embryon du 18e jour

Données expérimentales :

1 embryon, pesant 17 gr. 676.
Hydrolyse par 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1 000.

Poids de l'ensemble du liquide, 1 040 gr. 75.
Poids de la prise pour NH, 30 gr.
— NP, 1 010 gr. 75.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 17 mmgr.
NH trouvé pour la prise, 9 mmgr. 86 ; pour l'ensemble, 342 mmgr. 05.
NP trouvé pour la prise, 13 mmgr. 2; calculé pour l'ensemble, 13 mmgr. 59.
NT : 17 mmgr. + 342 mmgr. 05 = 359 mmgr. 05.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	13,59	76,8
NH. . .	342,05	1 937
NT. . .	359,05	2 033

NR pour 100 de NT, 4,7

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,1 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,9$$

Expérience n° 12 : embryon du 19e jour.

Données expérimentales :

1 embryon de 24 gr. 399.
Hydrolyse par 850 cc³ SO^4H^2 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 191 gr. 75.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1 141 gr. 45.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 26 mmgr. 53.
NH trouvé sur la prise, 16 mmgr. 76 ; calculé pour l'ensemble, 399 mmgr. 47.
NP trouvé sur la prise, 14 mmgr 9 ; calculé pour l'ensemble, 15 mmgr. 55
NT : 26 mmgr. 53 + 399 mmgr. 47 = 426 mmgr.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	15,55	63,7
NH. . .	399,47	1 626
NT. . .	426,0	1 745,9

NR p. 100 de NT, 6,2

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,05 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,78$$

Expérience n° 13 : embryon du 20e jour

Données expérimentales :

1 embryon pesant 25 gr. 477.
Hydrolyse par 800 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide 1 033 gr. 6.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 1 003 gr. 6.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 18 mmgr. 9.
NH trouvé, 12 mmgr. 16 ; calculé pour l'ensemble, 418 mmgr. 95.
NP trouvé, 15 mmgr. 2 ; calculé pour l'ensemble, 15 mmgr. 65.
NT : 18 mmgr. 9 + 418 mmgr. 95 = 437 mmgr. 85.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	15,65	61,42
NH. . .	418,95	1 644,0
NT. . .	437,85	1 718,0

NR pour 100 de NT, 4,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 3,87 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,70$$

Expérience n° 14 : poussin du 21e jour (ouvrant sa coquille)

Données expérimentales :

1 poussin pesant 33 gr. 401.
Hydrolyse par 850 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 014 gr. 8.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 984 gr. 8.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 28 mmgr. 9
NH trouvé, 16,2 ; calculé pour l'ensemble, 547 mmgr. 9.
NP *perdu*.
NT : 28 mmgr. 9 + 547 mmgr. 9 = 576 mmgr. 8.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	—	—
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	547,9	1 640,4
NT. . .	576,8	1 726,8

NR pour 100 de NT, 5,01

Expérience n° 15 : poussin âgé de 1 jour

Données expérimentales :

1 poussin de 30 gr. 781.
Hydrolyse par 850 cc³ de H^2SO^4 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 939 gr. 55.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 909 gr. 55.

Résultats :

NR trouvé pour l'ensemble, 44 mmgr. 8.
NH trouvé pour la prise, 21 mmgr. ; pour l'ensemble, 656 mmgr. 68.
NP trouvé pour la prise, 19 mmgr. 7 ; pour l'ensemble, 20 mmgr. 89.
NT : 44 mmgr. 8 + 656 mmgr, 68 = 701 mmgr. 48. *Acide urique* : 0.

Calculs :

	Par poussin.	Pour 100 gr. frais.
	—	—
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	20,89	67,8
NH. . .	656,68	2 133,3
NT. . .	701,48	2 278,9

NR pour 100 de NT, 6,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 3,28 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,06$$

Expérience n° 16 : poussin de 22 jours

Données expérimentales :

1 poussin de 61 gr.
Hydrolyse avec 2 litres H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 712 gr. 8.
Poids de la prise pour NH, 50 gr.
— — NP, perdu.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 63 mmgr. 2.
NP perdu.
NH trouvé pour la prise, 26 mmgr. 7 ; pour l'ensemble, 1 446 mmgr. 13.
NT : 63 mmgr. 2 + 1 446 mmgr. 13 = 1 509 mmgr. 33.

Calculs :

	Par poussin.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	1 446,13	2 370,7
NT. . .	1 509,33	2 474,3

NR pour 100 de NT, 4,1

Expérience n° 17 : poussin de 22 jours

Données expérimentales :

1 poussin de 43 grammes.
Hydrolyse par 1 800 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 079 gr. 1
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 2 049 mmgr. 1.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 64 mmgr. 8.
NH trouvé pour la prise, 15 mmgr. 3 ; calculé pour l'ensemble, 1 058 mmgr. 67.
NP trouvé pour la prise, 25 mmgr. 1 ; calculé pour l'ensemble 25 mmgr. 46.
NT : 64 mmgr. 8 + 1 058 mmgr. 67 = 1 123 mmgr. 47.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	25,46	59,20
NH. . .	1 058,67	2 462,0
NT. . .	1 123,47	2 612,7

NR pour 100 de NT, 5,7.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2{,}46 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2{,}31$$

Tous ces résultats sont rassemblés dans le tableau n° XVIII.

TABLEAU XVIII

Résultats concernant l'Embryon de Poulet (sans les membranes).

NUMÉRO de L'EXPÉRIENCE.	NOMBRE DE JOURS d'incubation.	NOMBRE D'EMBRYONS utilisés pour le dosage.	POIDS MOYEN D'UN EMBRYON en grammes.	PAR EMBRYON.			POUR 100 GR. FRAIS.			$\frac{NR \times 100}{NT}$	$\frac{NP \times 100}{NH-NP}$	$\frac{NP \times 100}{NT-NP}$
				NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.	NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.			
1	5	23	0,251	1,460	1,419	»	582	565	»	2,92	»	»
2	8	18	0,910	5,81	5,64	0,561	638	620	61,6	2,8	11,05	10,7
3	9	10	1,35	7,80	7,56	0,68	579	560	50,3	3	9,8	9,54
4	11	8	2,497	18,8	18,17	1,33	752	727	53,4	3,4	7,9	7,6
5	13	3	5,694	57,5	54,9	3,8	1 010	964	66,8	4,5	7,44	7,08
6	14	6	7,85	97,4	93,2	5,6	1 241	1 187	71,3	4,3	6,38	6,09
7	15	2	11,159	168,9	161,3	8,7	1 513	1 445	78	4,4	5,7	5,4
8	16	1	13	228	214,6	9,18	1 754	1 650	70,6	5,9	4,46	4,19
9	16	1	14,22	244	229,8	»	1 715	1 616	»	5,7	»	»
10	17	1	14,226	244,8	234,2	10,5	1 721	1 646	73,8	4,3	4,6	4,4
11	18	1	17,676	359	342,0	13,59	2 033	1 937	76,8	4,7	4,1	3,9
12	19	1	24,399	426	399,4	15,55	1 745,9	1 636	63,7	6,2	4,05	3,78
13	20	1	25,477	437,8	418,9	15,65	1 718	1 644	61,42	4,3	3,87	3,70
14	21 † naissance	1	33,401	576,8	547,9	»	1 726	1 640	»	5,05	»	»
15	1 jour.	1	30,781	701,4	656,6	20,89	2 278,9	2 133	67,8	6,3	3,28	3,06
16	22 —	1	61	1 509	1 446	»	2 474	2 370	»	4,1	»	»
17	22 —	1	43	1 123	1 058	25,46	2 612	2 462	59,2	5,7	2,46	2,31

PORC

Détermination de l'âge des embryons de porc

Comme nous l'avons dit, on ne trouve dans la bibliographie que quelques données concernant le parallélisme entre la longueur en millimètres et l'âge en jours des embryons de porc. Pour combler cette lacune nous avons établi à l'aide de ces chiffres une courbe dessinée en prenant les jours comme abscisses et les longueurs comme ordonnées. A l'aide de cette courbe nous avons eu par extrapolation l'âge des embryons dont nous ne connaissions que la longueur. Voici la table récapitulative des résultats obtenus. Les chiffres en caractères gras désignent les données expérimentales qui nous ont servi à établir la courbe, et qui sont empruntées à *Keibel, Vialleton,* etc.

Longueurs en millimètres.	Age en jours.	Longueurs en millimètres.	Age en jours.
2,5 à 3	**15**	82	57,5
5	**17**	85	59
8	**20**	106	68
12	**22**	112	70,5
20	27	116	72
25	30	126	76
28	32	**135-140**	**70**
30	33	140	82
35	36	148	85
40	38	154	87,5
44	40	184	97,5
46	41	200	102
48	**42**	215	105
54	45	250	115
60	48	**190 à 250**	**105 à 120**
65	50	**300**	**123**
70	52	300	123
80	**56**	320	126,5

A. *Résultats obtenus par emploi de la double précipitation cuivrique*

Expérience n° 1 : embryons de 20-21 millimètres. Age : 27 jours

Données expérimentales :

35 embryons : poids total, 14 gr. 33 ; poids moyen, 0 gr. 409.
Hydrolysé par 400 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 613 gr. 45.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 583 gr. 45.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 4 milligr.
NH trouvé, 5 mmgr. 8; calculé pour l'ensemble, 118 mmgr. 6.
NP trouvé, 8 mmgr. 0; calculé pour l'ensemble, 8 mmgr. 41.
NT trouvé, 4 + 118,6 = 122 mmgr. 6.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	0,24	58,6
NH . . .	3,38	827,6
NT . . .	3,50	855,5

NR pour 100 de NT, 3,26.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,6 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NH} = 7,3$$

Expérience n° 2 : embryons de 25 millimètres. Age : 30 jours

Données expérimentales :

12 embryons : poids total, 11 gr. 077; poids moyen, 0 gr. 923.
Hydrolyse par 400 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 622 gr. 65.
Poids de la prise pour détermination de NH, 40 gr.
— — de NP, 582 gr. 65.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 4 milligr. 2.
NH trouvé, 5 mmgr. 5; calculé pour l'ensemble, 86 mmgr. 1.
NP trouvé, 5 mmgr. 82; calculé pour l'ensemble, 6 mmgr. 22.
NT trouvé, 4 mmgr. 2 + 86 mmgr. 1 = 90 mmgr. 31.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,616	56,1
NH. . .	7,17	777,0
NP. . .	7,52	815,0

NR pour 100 de NT, 4,6.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,7 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,4$$

Expérience n° 3 : embryons de 28 millimètres. Age : 32 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 20 : poids total, 37 gr. 538; poids moyen, 1 gr. 876.
Hydrolysé par 600 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 875 gr. 55.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— de NP, 845 gr. 55.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 13 mmgr. 4.
NH trouvé, 10 mmgr.; calculé pour l'ensemble, 291 mmgr. 8.
NP trouvé, 20 mmgr. 8; calculé pour l'ensemble, 21 mmgr. 53.
NT : 13,4 + 291 mmgr. 8 = 305 mmgr. 2.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,07	57,3
NH. . .	14,59	777,3
NT. .	15,26	813,0

NR pour 100 de NT, 4,39.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,96 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,58$$

Expérience n° 4 : embryons de 30-31 millimètres. Age : 33 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 18 : poids total, 38 gr. 228; poids moyen, 2 gr. 123.
Hydrolyse par 650 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 910 gr. 6.

Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 880 gr. 6.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 15 mmgr.
NH trouvé pour la prise, 10 mmgr. 7 ; calculé pour l'ensemble, 324 mmgr. 78.
NP trouvé pour la prise, 23 mmgr. 1 ; calculé pour l'ensemble, 23 mmgr. 88.
NT : 15 + 324 mmgr. 78 = 339 mmgr. 78.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,32	62,46
NH. . .	18,04	849,5
NT. . .	18,87	888,8

NR pour 100 de NT, 4,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,93 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,55$$

Expérience n° 5 : embryons de 35 millimètres. Age : 36 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 22 : poids total, 69 gr. ; poids moyen, 3 gr. 136.
Hydrolyse par 1 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 401 gr. 05.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1 138 gr. 9.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 24 mmgr. 9.
NH trouvé, 11 mmgr. 8 ; calculé pour l'ensemble, 566 mmgr. 64.
NP trouvé, 18 mmgr. 7 ; calculé pour l'ensemble, 39 mmgr. 42.
NT : 24,9 + 566 mmgr. 64 = 591 mmgr. 54.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,79	57,1
NH. . .	25,75	821,2
NT. .	26,88	857,0

NR pour 100 de NT, 4,2.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 7,4 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,1$$

Expérience n° 6 : embryons de 44 millimètres. Age : 40 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 6 : poids total, 43 gr. 523; poids moyen, 7 gr. 253.
Hydrolyse par 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 367 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 1 337 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 12 mmgr. 6.
NH trouvé pour la prise, 7 mmgr. 8; calculé pour l'ensemble, 355 mmgr. 4.
NP trouvé pour la prise, 22 mmgr. 55; calculé pour l'ensemble, 23 mmgr. 07.
NT : 12 mmgr. 6 + 355 mmgr. 4 = 368 mmgr.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	3,84	53
NH . . .	59,2	816
NT . . .	63,0	868

NR pour 100 de NT, 3,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,94 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,49$$

Expérience n° 7 : embryons de 60 millimètres. Age : 48 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 4 : poids total, 55 gr.; poids moyen, 13 gr. 75.
Hydrolyse par 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 274 gr. 6.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 1 244 gr. 6.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 21 mmgr. 7.
NH pour la prise trouvé, 11 mmgr. 3; calculé pour l'ensemble, 480 mmgr. 09.
NP pour la prise trouvé, 26 mmgr. 7; calculé pour l'ensemble, 27 mmgr. 34.
NT : 21 mmgr. 7 + 480 mmgr. 09 = 501 mmgr. 79.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	6,83	49,7
NH. . .	120,02	872
NT. . .	125,44	912

NR pour 100 de NT, 4,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,03 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 5,7$$

Expérience n° 8 : embryons de 85 millimètres. Age : 59 jours

Données expérimentales :

2 embryons : poids total, 65 gr.; poids moyen, 32 gr. 5.
Hydrolyse par 1 500 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 005 gr. 3.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1 076 mmgr. 8.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 27 mmgr. 6.
NH trouvé pour la prise, 16 mmgr.; calculé pour l'ensemble, 641 mmgr. 6.
NP trouvé pour la prise, 16 mmgr. 7; calculé pour l'ensemble, 31 mmgr. 1.
NT : 27 mmgr. 6 × 641 mmgr. 6 = 669 mmgr. 2.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	13,8	47,8
NH. . .	320,8	986
NT. . .	334,6	1 029

NR pour 100 de NT, 4,1.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 5,09 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,87$$

Expérience n° 9 : embryon de 118 millimètres Age : 72 jours et demi

Données expérimentales :

1 embryon pesant 88 gr.
Hydrolyse par 1 850 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 494 gr. 05.

Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 2444 gr. 05.

Résultats :

NR de l'ensemble, 29 mmgr. 52.
NH trouvé pour la prise, 15 mmgr. 4 ; calculé pour l'ensemble, 768 mmgr. 16.
NP trouvé pour la prise, 27 mmgr. 53 ; calculé pour l'ensemble, 28 mmgr. 09.
NT : 29 mmgr. 52 + 768 mmgr. 16 = 797 mmgr. 68.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	28,09	31,9
NH. . .	768,16	872,9
NT. . .	797,68	906,4

NR pour 100 de NT, 3,7.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 3,79 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,65$$

Expérience n° 10 : embryon de 155 millimètres. Age : 87 jours et demi

Données expérimentales :

1 embryon de 155 millimètres pesant 182 gr.
Hydrolyse par 2600 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 3395 gr. 35.
Poids de la prise pour détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 929 gr. 45.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 69 mmgr. 3.
NH trouvé pour la prise, 28 mmgr. 8 ; pour l'ensemble, 1955 mmgr. 72.
NP trouvé pour la prise, 14 mmgr. 3 ; pour l'ensemble, 54 mmgr. 43.
NT : 69 mmgr. 3 + 1955 mmgr. 72 = 2025 mmgr. 02.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	54,43	29,9
NH. . .	1955,72	1075
NT. . .	2025,02	1112

NR pour 100 de NT, 3,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,86 \qquad \frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,76$$

Expérience n° 11 : embryon de 200 millimètres. Age : 102 jours

Données expérimentales :

1 embryon pesant 349 gr. 5.
Hydrolyse par 3500 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 4150 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1000 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 163 mmgr. 6.
NH pour la prise trouvé, 48 mmgr. 5 ; calculé pour l'ensemble, 4030 mmgr. 4.
NP pour la prise trouvé, 22 mmgr. 24 ; calculé pour l'ensemble, 92 mmgr. 3.
NT : 163 mmgr. 6 + 4030 mmgr. 4 = 4194 mmgr. 04.

Calculs :

	Par embryon.	Par 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	92,3	26,4
NH. . .	4030,44	1153,0
NT. . .	4194,04	1200,0

NR pour 100 de NT, 3,9.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,34 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2,25$$

Expérience n° 12 : embryon de 215 millimètres. Age : 105 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 1 ; poids, 410 gr.
Hydrolysé par 3500 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 4733 gr.
Poids de la prise pour détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, *perdue*.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 210 mmgr. 8.
NH pour la prise trouvé, 51 mmgr. ; pour l'ensemble, 4827 mmgr. 6.
NT : 210 mmgr. 8 + 4827 mmgr. 6 = 5038 mmgr. 4.

Calculs :

	Par embryon.	Par 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	4827,6	1177,0
NT. . .	5038,4	1228,0

NR pour 100 de NT, 4,1.

Expérience n° 13 : embryon de 250 millimètres. Age : 115 jours

Données expérimentales :

1 embryon pesant 610 gr.

Hydrolyse par 6 500 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.

Après homogénéisation du liquide on a prélevé 450 gr. pour l'azote purique et 50 gr. pour l'azote hydrolysé NH. Une partie du liquide ayant été perdue, on a seulement déterminé le rapport $\frac{NP \times 100}{NH - NP}$.

Résultats :

NH trouvé pour 50 gr. : 74 milligr. 8; calculé pour 450 gr., 673 mmgr. 2.

NP trouvé pour 450 gr. : 15 mmgr. 5.

Calculs :

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,3$$

Expérience n° 14 : embryon de 250 millimètres. Age : 115 jours

Données expérimentales :

1 embryon pesant 720 gr.

Hydrolysé par 7 500 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.

Poids de l'ensemble du liquide, 9 850 gr.

Poids de la prise pour détermination de NH, 150 gr.

— — de NP, *perdu.*

Résultats :

NR pour l'ensemble, 351 mmgr. 52.

NH pour la prise, 155 mmgr. 3; pour l'ensemble, 10 198 mmgr.

NT : 10 198 mmgr. + 351 mmgr. 52 = 10 549 mmgr. 52.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	10 198	1 416
NT. . .	10 549,52	1 465

NR pour 100 de NT, 3,3.

Les résultats de ces expériences sont résumés dans le tableau XIX.

TABLEAU XIX

Résultats obtenus sur l'embryon de porc. Série A : purines dosées par la méthode double cuivrique.

NUMÉRO de L'EXPÉRIENCE.	LONGUEURS DES EMBRYONS en millimètres.	AGE DES EMBRYONS en jours.	NOMBRE D'EMBRYONS utilisés pour le dosage.	POIDS MOYEN D'UN EMBRYON en grammes.	PAR EMBRYON.			POUR 100 GR. FRAIS			$\frac{NR \times 100}{NT}$	$\frac{NP \times 100}{NH - NP}$	$\frac{NP \times 100}{NT - NP}$
					NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.	NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.			
1	20-21	27	35	0,409	3,50	3,38	0,24	855,5	827,6	58,6	3,26	7,6	7,3
2	25	30	12	0,923	7,52	7,17	0,616	815	777	56,1	4,6	7,7	7,4
3	28	32	20	1,876	15,26	14,59	1,07	813	777,3	57,3	4,39	7,96	7,58
4	30-31	33	18	2,123	18,87	18,04	1,32	888,8	849,5	62,46	4,4	7,93	7,55
5	35	36	22	3,136	26,88	25,75	1,79	857	821,2	57,1	4,2	7,4	7,1
6	44	40	6	7,253	63	59,2	3,84	868	816	53	3,4	6,94	6,49
7	60	48	4	13,75	125,4	120	6,83	912	872	49,7	4,3	6,03	5,7
8	85	59	2	32,5	334,6	320,8	13,8	1 029	986	47,8	4,1	5,09	4,87
9	118	72,5	1	88	797,6	768,1	28,09	906	872,9	31,9	3,7	3,79	3,65
10	155	87,5	1	182	2 025	1 955,7	54,4	1 112	1 075	29,9	3,4	2,86	2,76
11	200	102	1	349,5	4 194	4 030	92,3	1 200	1 153	26,4	3,9	2,34	2,25
12	215	105	1	410	5 038	4 827	»	1 228	1 177	»	4,1	»	»
13	250	115	1	610	»	»	»	»	»	»	»	2,3	»
14	250	115	1	720	10 549	10 198	»	1 465	1 416	»	3,3	»	»

B. Résultats obtenus par la méthode cuivro-argentique.

Ces expériences sur le porc ont été faites avant la série A (double cuivrique) à un moment où notre technique n'était pas complètement réglée. L'hydrolyse était faite avec SO^4H^2 à 40 p. 1000 et le dosage des purines par la méthode cuivro-argentique.

Expérience n° 1 : embryons de 25 millimètres. Age : 30 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 29; poids total, 21 gr. 572; poids moyen, 0 gr. 743.
Hydrolysé par 700 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 138 gr. 85.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 59 gr. 4.
— — de NP, 1 079 gr. 45.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 4 mmgr. 5.
NH pour la prise, trouvé, 8 mmgr. 9; calculé pour l'ensemble, 170 mmgr. 5.
NP pour la prise, trouvé, 9 mmgr. 45; calculé pour l'ensemble, 9 mmgr. 97.
NT : 170 milligr. 5 + 4 mmgr. 5 = 175 mmgr.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	0,343	48
NH . . .	5,8	790
NT . . .	6,0	841

NR pour 100 de NT, 2,5.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,2 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,03$$

Expérience n° 2 : embryons de 28 millimètres. Age : 32 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 9; poids total, 17 gr. 554; poids moyen, 1 gr. 95.
Hydrolyse par 400 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 576 grammes.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 33 gr. 35.
— — de NP, 342 gr. 65.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 4 mmgr. 25.
NH pour la prise, trouvé, 7 mmgr. 98 ; calculé pour l'ensemble 137 mmgr. 8.
NP pour la prise, trouvé, 8 mmgr. 15 ; calculé pour l'ensemble, 8 mmgr. 65.
NT : 4 milligr. 25 + 137 mmgr. 8 = 142 mmgr. 05.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	0,961	49
NH . . .	15,31	785
NT . . .	15,78	809

NR pour 100 de NT, 3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,6 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,4$$

Expérience n° 3 : embryons de 30 millimètres. Age : 33 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 9 ; poids total, 23 gr. 845 ; poids moyen, 2 gr. 649.
Hydrolysé par 650 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 827 gr. 9.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 35 gr. 2.
Poids de la prise pour la détermination de NP, 792 gr. 7.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 6 mmgr. 75.
NH pour la prise, trouvé, 8 mmgr. 67 ; calculé pour l'ensemble, 204 mgr. 1.
NP pour la prise, trouvé, 11 mmgr. 62 ; calculé pour l'ensemble, 12 mgr. 27.
NT : 6 mmgr. 75 + 204 mmgr. 1 = 210 mmgr. 8.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	1,363	51
NH . . .	22,5	855
NT . . .	23,4	889

NR pour 100 de NT, 3,2.

$$\frac{NP \times 100}{NH - HP} = 6,3 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,1$$

Expérience n° 4 : embryons de 33 millimètres. Age : 35 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 18; poids total, 54 gr. 4; poids moyen, 3 gr. 02.
Hydrolyse par 700 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 892 gr. 7.
Poids de la prise pour détermination de NH, 32 gr. 275.
— — de NP, 860 gr. 42.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 17 mmgr. 95.
NH pour la prise, trouvé, 17 mmgr. 28; calculé pour l'ensemble, 478 mmgr.
NP pour la prise, trouvé, 27 mmgr. 46; calculé pour l'ensemble, 28 mmgr. 5.
NT : 17 mmgr. 5 + 478 mmgr. = 496 mmgr. 95.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	1,58	52
NH . . .	26,5	878
NT	27,5	914

NR pour 100 de NT, 3,6.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,3 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,09$$

Expérience n° 5 : embryons de 46 millimètres. Age : 41 jours

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 2; poids total, 17 gr. 978; poids moyen, 8 gr. 989.
Hydrolysé par 500 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 700 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 650 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 5 mmgr. 06.
NH pour la prise, trouvé, 12 mgr. 38; calculé pour l'ensemble, 173 mgr. 42.
NP pour la prise, trouvé, 8 mmgr. 45; calculé pour l'ensemble, 9 mmgr. 1.
NT : 5 mmgr. 06 + 173 mmgr. 42 = 178 mmgr. 48.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	4,55	50,6
NH . . .	86,71	965
NT . . .	89,24	992

NR pour 100 NT, 2,8.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 5,5 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 5,3$$

Expérience n° 6 : embryons de 61 millimètres. Age : 48 jours

Données expérimentales :

2 embryons pesant 22 gr. 656; poids moyen, 11 gr. 328.
Hydrolyse par 500 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 650 grammes.
Poids de la prise pour détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 600 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 7 mmgr. 2.
NH pour la prise, trouvé, 17 mmgr. 78; calculé pour l'ensemble, 231 mgr. 14.
NP pour la prise, trouvé, 9 mmgr. 18; calculé pour l'ensemble, 9 mmgr. 95.
NT : 7 mmgr. 2 + 231 mmgr. 14 = 238 mmgr. 34.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	4,975	43,9
NH . . .	115,5	1 020
NT . . .	119,1	1 052

NR pour 100 de NT, 3,0.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,7 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,5$$

Expérience n° 7 : embryons de 61 millimètres. Age : 48 jours

Données expérimentales :

2 embryons pesant 31 gr. 701; poids moyen, 15 gr. 850.
Hydrolyse par 550 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 700 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 650 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 12 mmgr. 13
NH pour la prise, trouvé, 23 mmgr. 54 ; calculé pour l'ensemble, 329 mmgr. 6.
NP pour la prise, trouvé, 13 mmgr. 38 ; calculé pour l'ensemble, 14 mmgr. 4.
NT : 12 mmgr. 13 + 329 mmgr. 6 = 341 mmgr. 73.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	7,2	45,4
NH. . .	164,8	1 039
NT. . .	170,8	1 078

NR pour 100 de NT, 3,5

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,5 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,4$$

Expérience n° 8 : embryons de 70 millimètres. Age : 52 jours et demi.

Nombre d'embryons, 4 ; poids total, 73 gr. ; poids moyen, 18 gr. 25.
Hydrolysé par 900 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1 100 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 1 050 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 34 mmgr. 64.
NH pour la prise, trouvé, 36 mmgr. 8 ; calculé pour l'ensemble, 809 mmgr. 6.
NP pour la prise, trouvé, 33 mmgr. 7 ; calculé pour l'ensemble, 35 mmgr. 3.
NT : 34 mmgr. 64 + 809 mmgr. 6 = 844 mmgr. 24.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	8,825	48
NH. . .	202,4	1 108
NT. . .	211	1 156

NR pour 100 de NT, 4,1.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 4,5 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4,3$$

Expérience n° 9 : embryon de 82 millimètres. Age : 58 jours

Données expérimentales :

1 embryon de 30 gr.
Hydrolyse par 450 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 570 gr. 63.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 15 gr. 2.
— — de NP, 555 gr. 43.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 14 mmgr. 84.
NH pour la prise trouvé, 9 mmgr. 38; calculé pour l'ensemble, 352 mmgr. 1.
NP pour la prise trouvé, 13 mmgr. 09; calculé pour l'ensemble, 13 mmgr. 44.
NT : 14 mmgr. 84 + 352 mmgr. 1 = 366 mmgr. 94.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP . . .	13,44	43,8
NH . . .	352,1	1 173,6
NT . . .	366,94	1 223,0

NR pour 100 de NT, 4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 3,9 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,8$$

Expérience n° 10 : embryon de 106 millimètres. Age : 68 jours

Données expérimentales :

1 embryon de 68 gr.
Hydrolyse par 1000 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 1413 gr. 67.
Poids de la prise pour détermination de NH, 26 gr. 25.
— — de NP, 1 387 gr. 4.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 29 mmgr. 54.
NH pour la prise trouvé, 13 mmgr. 09; pour l'ensemble, 704 mmgr. 9.
NP pour la prise trouvé, 15 mmgr. 75; pour l'ensemble, 16 mmgr. 05.
NT : 29 mmgr. 54 + 704 mmgr. 9 = 734 mmgr. 44.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	16,05	23,6
NH. . .	704,9	1 036
NT. . .	734,44	1 080

NR pour 100 de NT, 4,0.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,33 \qquad \frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,26$$

Expérience n° 11 : embryon de 112 millimètres. Age : 70 jours et demi

Données expérimentales :

1 embryon de 65 gr.
Hydrolysé par 750 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 930 gr. 58.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 19 gr. 05.
— — de NP, 911 gr. 53.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 38 gr. 92.
NH trouvé pour la prise, 13 mmgr. 3 ; calculé pour l'ensemble, 649 mmgr. 6.
NP trouvé pour la prise, 15 mmgr. 12 ; calculé pour l'ensemble, 15 mmgr. 43.
NT : 38 mmgr. 92 + 649 mmgr. 6 = 688 mmgr. 52.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	15,43	21,3
NH. . .	649,6	999,3
NT. . .	688,52	1 059

NH pour 100 de NT, 5,6.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,17 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2,05$$

Expérience n° 12 : embryon de 148 millimètres. Age : 85 jours

Données expérimentales :

1 embryon de 158 gr.
Hydrolyse par 2000 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 500 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 50 gr.
— — de NP, 2 450 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 123 mmgr. 11.
NH pour la prise trouvé, 32 mmgr. 11 ; pour l'ensemble, 1 605 mmgr. 5.
NP pour la prise trouvé, 27 mmgr. 46 ; pour l'ensemble, 28 mmgr. 02.
NT : 123 mmgr. 11 + 1 605 mmgr. 5 = 1 728 mmgr. 6.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	28,02	17,7
NH. . .	1 605,5	1 016
NT. . .	1 728,6	1 094

NR pour 100 de NT, 7,1.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 1,7 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 1,6$$

Expérience n° 13 : embryon de 155 millimètres. Age : 87 jours et demi

Données expérimentales :

1 embryon de 181 grammes.
Hydrolysé par 2000 cc³ de H^2SO^4 à 40 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 800 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 100 gr.
— — de NP, 2 700 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 141 mmgr. 66.
NH pour la prise trouvé, 79 mmgr. 26 ; pour l'ensemble, 2 219 mmgr. 4.
NP pour la prise trouvé, 31 mmgr. 43 ; pour l'ensemble, 32 mmgr. 6.
NT : 141 mmgr. 66 + 2 219 mmgr. 44 = 2 361 mmgr. 1.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	32,6	18,0
NH. . .	2 219,4	1 225
NT. . .	2 361,1	1 304

NR pour 100 de NT, 6.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NT} = 1,49 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 1,40$$

Les résultats de ces expériences sont consignés dans le tableau XX.

TABLEAU XX

Résultats obtenus sur l'embryon du porc. Série B : les purines sont dosées par la méthode cuivro-argentique.

NUMÉRO de L'EXPÉRIENCE.	LONGUEUR DES EMBRYONS en millimètres.	AGE DES EMBRYONS en jours	NOMBRE D'EMBRYONS utilisés pour le dosage.	POIDS MOYEN D'UN EMBRYON en grammes.	PAR EMBRYON.			POUR 100 GR. FRAIS.			$\frac{NR \times 100}{NT}$	$\frac{NP \times 100}{NH - NP}$	$\frac{NP \times 100}{NT - NP}$
					NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.	NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.			
1	25	30	29	40,73	6	5,8	0,343	811	790	48	2,5	6,2	6,03
2	28	32	9	1,95	15,78	15,31	0,961	809	785	49	3,0	6,6	6,4
3	30	33	9	2,649	23,4	22,5	1,363	889	855	51	3,2	6,3	6,1
4	33	35	18	3,02	27,5	26,5	1,58	914	878	52	3,6	6,3	6,09
5	46	41	2	8,989	89,24	86,71	4,55	992	965	50,6	2,8	5,5	5,3
6	61	48	2	11,328	119,1	115,5	4,975	1 052	1 020	43,9	3	4,7	4,5
7	61	48	2	15,85	170,8	164,8	7,2	1 078	1 039	45,4	3,5	4,5	4,4
8	70	52,5	4	18,25	211	202,4	8,82	1 156	1 108	48	4,1	4,5	4,3
9	82	58	1	30	366,9	352	13,44	1 223	1 173	43,8	4	3,9	3,8
10	106	68	1	68	734,4	704,9	16,05	1 680	1 036	23,6	4	2,33	2,26
11	112	70,5	1	65	688,5	649,6	15,43	1 059	999,3	21,3	5,6	2,17	2,05
12	148	85	1	158	1 278	1 605	28,02	1 094	1 016	17,7	7,1	1,7	1,6
13	155	87,5	1	181	2 361	2 219	32,6	1 304	1 225	18	6,0	1,49	1,40

C. Expériences sur l'embryon de porc ne concernant que l'azote total et l'azote hydrolysé

Un certain nombre d'expériences n'ayant pas pour but la détermination du RNP nous ont fourni des chiffres de NH et de NT. Nous les relatons ici; nous les avons pris en considération dans le tableau XXI où sont établies les teneurs moyennes des embryons de porc en NH et NT.

Expérience n° 1 : 21 embryons de 20-21 millimètres. Age : 27 jours

Poids moyen d'un embryon : 0 gr. 385.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	27,3	707
NT. . .	28,0	726

Expérience n° 2 : 12 embryons de 26 millimètres. Age : 30 jours et demi

Poids moyen d'un embryon : 1 gr. 091

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	8,61	788
NT. . .	8,89	814

Expérience n° 3 : 10 embryons de 30 millimètres. Age : 33 jours

Poids moyen : 2 gr. 085.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	17,2	127
NT. . .	17,7	150

Expérience n° 4 : 10 embryons de 40 millimètres. Age : 38 jours

Poids moyen : 5 gr. 04.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	38,8	770
NT. . .	40,2	798

Expérience n° 5 : 7 embryons de 44 millimètres. Age : 40 jours

Poids moyen : 6 gr. 71.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	60,78	905
NT. . .	63,15	940

Expérience n° 6 : 9 embryons de 54 millimètres. Age : 45 jours

Poids moyen : 10 gr. 33.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	94,8	914
NT. . .	101,8	921,5

Expérience n° 7 : 1 embryon de 61 millimètres. Age : 48 jours

Poids moyen : 14 gr. 625.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	157,4	1 076
NT. . .	166,9	1 142

Expérience n° 8 : 6 embryons de 65 millimètres. Age : 50 jours

Poids moyen : 17 gr. 074.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	174	1 018
NT. . .	182	1 066

Expérience n° 9 : 1 embryon de 82 millimètres. Age : 58 jours

Poids : 28 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	312,5	1 115
NT. . .	328,39	1 172

Expérience n° 10 : 2 embryons de 82 millimètres. Age : 58 jours

Poids moyen : 31 gr. 5.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	328,2	1 042
NT. . .	342	1 085

Expérience n° 11 : 1 embryon de 112 millimètres. Age : 70 jours et demi

Poids : 63 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	635	1 008
NT. . .	667,6	1 059

Expérience n° 12 : 1 embryon de 116 millimètres. Age : 72 jours

Poids : 83 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	704	848
NT. . .	—	—

Expérience n° 13 : 1 embryon de 126 millimètres. Age : 76 jours

Poids : 83 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	741	892
NT. . .	771	928

Expérience n° 14 : 1 embryon de 136 millimètres. Age : 80 jours

Poids : 112 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	1 167	1 042
NT. . .	1 199	1 071

Expérience n° 15 : 1 embryon de 140 millimètres. Age : 82 jours

Poids : 157 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	1 710	1 022
NT. . .	1 762	1 087

Expérience n° 16 : 1 embryon de 184 millimètres. Age : 97 jours et demi

Poids : 267 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	2 770	1 037
NT. . .	2 852	1 067

Expérience n° 17 : 1 embryon de 300 millimètres. Age : 123 jours

Poids : 987 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	13 071	1 324
NT. . .	14 427	1 461

Expérience n° 18 : 1 embryon de 320 millimètres. Age : 126 jours.

Poids : 1 180 gr.

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NH. . .	18 670	1 581
NT. . .	19 476	1 650

Dans le tableau XXI on trouvera la teneur moyenne des embryons de porc de tous les stades, en azote total et azote hydrolysé, teneur calculée en tenant compte de tous les résultats expérimentaux concernant le porc.

TABLEAU XXI

Teneurs moyennes des embryons de porc en azote total et azote hydrolysé aux différents stades du développement.

LONGUEUR EN MILLIMÈTRES.	AGE EN JOURS.	NOMBRE DE DOSAGES.	NOMBRE TOTAL des embryons analysés.	POIDS MOYEN D'UN EMBRYON en grammes.	N TOTAL D'UN EMBRYON en milligr.	N TOTAL POUR 100 gr. frais en milligr.	N HYDROLYSÉ D'UN EMBRYON en milligr.	N HYDROLYSÉ POUR 100 gr. frais en milligr.
20-21	27	2	56	0,400	3,23	807	3,14	785
25	30	2	41	0,796	6,47	812	6,01	755
26	30,5	1	12	1,091	8,89	814	8,61	788
28	32	2	29	1,898	15,41	811	14,81	780,4
30-31	33	3	37	2,241	19,66	877	18,93	845
33	35	1	18	3,02	27,5	914	26,5	878
35	36	1	22	3,136	26,88	857	25,75	821
40	38	1	10	5,04	40,2	798	38,8	770
44	40	2	13	6,963	63	904	60	862
46	41	1	2	8,989	89,24	992	86,71	965
54	45	1	9	10,33	101,8	921,5	94,8	914
60	48	1	4	13,75	125,4	912	120	872
61-62	48,5	3	5	13,79	149,39	1 090	143,62	1 045
65	50	1	6	17,07	182	1 066	174	1 018
70	52	1	4	18,25	211	1 156	202	1 108
82	58	3	4	30,25	344,5	1 138	330	1 090
85	59	1	2	32,5	334,6	1 029	320,8	986
106	68	1	1	68	734	1 080	704	1 036
112	70,5	2	2	64	678	1 057	642	1 003
116	72	1	1	83	»	»	704	848
118	72,5	1	1	88	797,6	906	768,1	872,9
126	76	1	1	83	771	928	741	892
136	80	1	1	112	1 199	1 071	1 167	1 042
140	82	1	1	157	1 762	1 087	1 710	1 022
148	85	1	1	158	1 728,6	1 094	1 605	1 016
154-155	87,5	2	2	181,5	2 193	1 208	2 087	1 150
184	97,5	1	1	267	2 852	1 067	2 770	1 037
200	102	1	1	349,5	4 194	1 200	4 030	1 153
215	105,5	1	1	410	5 038	1 228	4 827	1 177
250	115	1	1	720	10 549	1 465	10 198	1 416
300	123	1	1	987	14 427	1 461	13 071	1 324
320	126,5	1	1	1 180	19 476	1 650	18 670	1 581

SOURIS

Expérience n° 1 : embryons de 12 millimètres

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 33 : poids total, 7 gr. 407 ; poids moyen, 0 gr. 224.
Hydrolyse par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000, 8 heures.
Poids de l'ensemble du liquide, 519 gr. 05.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 489 gr. 05.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 2 mmgr. 3.
NH pour la prise trouvé, 5 mmgr. 4 ; calculé pour l'ensemble, 93 mmgr. 42.
NP pour la prise trouvé, 7 mmgr. 8 ; calculé pour l'ensemble, 8 mmgr. 27.
NT : 93 mmgr. 42 + 2 mmgr. 3 = 95 mmgr. 72.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,250	111
NH. . .	2,83	1 261,2
NT. . .	2,90	1 292,2

NR pour 100 de NT, 2,4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 9{,}71 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 9{,}45$$

Expérience n° 2 : embryons de 17 millimètres

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 12 : poids total, 6 gr. 284 ; poids moyen, 0 gr. 522.
Hydrolyse par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 528 gr.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 498 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 2 mmgr. 4.
NH pour la prise trouvé, 4 mmgr. 9 ; pour l'ensemble, 86 mmgr. 24.
NP pour la prise trouvé, 6 mmgr. 2 ; pour l'ensemble, 6 mmgr. 57.
NT : 86 mmgr. 24 + 2 mmgr. 4 = 88 mmgr. 64.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,54	95,67
NH. . .	7,18	1 255,8
NT. . .	7,38	1 290,5

NR pour 100 de NT, 2,7.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 8,2 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 8,00$$

Expérience n° 3 : embryons de 18 à 19 millimètres

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 13 : poids total, 8 gr. 486; poids moyen, 0 gr. 652.
Hydrolysé par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 492 gr. 5.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 462 gr. 5.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 5 mmgr. 3.
NH pour la prise trouvé, 9 mmgr. 2; pour l'ensemble, 151 mmgr. 03.
NP pour la prise trouvé, 10 mmgr. 6; pour l'ensemble, 11 mmgr. 28.
NT : 151 mmgr. 03 + 5 mmgr. 3 = 156 mmgr. 33.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,867	132,9
NH. . .	11,61	1 779
NT. . .	12,02	1 842

NR pour 100 de NT, 3,3.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 8,07 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 7,77$$

Expérience n° 4 : embryons de 23 millimètres

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 6 : poids total, 5 gr. 234; poids moyen, 0 gr. 872.
Hydrolyse par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1 000.
Poids de l'ensemble du liquide, 524 gr.
Poids de la prise pour détermination de NH, 40 gr.
— — de NP, 484 gr.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 2 mmgr. 2.
NH pour la prise trouvé, 6 mmgr. 9; pour l'ensemble, 90 mmgr. 39.
NP pour la prise trouvé, 5 mmgr. 1 ; pour l'ensemble, 5 mmgr. 52.
NT : 90 mmgr. 39 + 2 mmgr. 2 = 92 mmgr. 59.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,92	105,4
NH. . .	15,06	1 702
NT. . .	15,43	1 769

NR pour 100 de NT, 2,37

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 6,5 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 6,3$$

Expérience n° 5 : embryons de 28 millimètres

Données expérimentales :

Nombre d'embryons, 6; poids total, 7 gr. 116 ; poids moyen, 1 gr. 186.
Hydrolyse par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 496 gr. 05.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr. 0.
— — de NP, 466 gr. 05.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 3 mmgr. 5.
NH pour la prise trouvé, 7 mmgr.; pour l'ensemble, 115 mmgr. 74.
NP pour la prise trouvé, 5 mmgr. 8; pour l'ensemble, 6 mmgr. 17.
NT : 3 mmgr. 5 + 115 mmgr. 74 = 119 mmgr. 24.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,028	86,7
NH. . .	19,29	1 626
NT. . .	19,87	1 675

NR pour 100 de NT, 2,9.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 5,6 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 5,4$$

Expérience n° 6 : embryons de 29 millimètres 5

Données expérimentales :

5 embryons : poids total, 6 gr. 75 ; poids moyen, 1 gr. 35.
Hydrolyse par 300 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 524 gr. 4.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 494 gr. 4.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 2 mmgr. 6.
NH pour la prise trouvé, 5 mmgr. 1 ; pour l'ensemble, 89 mmgr. 14.
NP pour la prise trouvé, 4 mmgr. 1 ; pour l'ensemble, 4 mmgr. 34.
NT : 89 mmgr. 14 + 2 mmgr. 6 = 91 mmgr. 74.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	0,86	64,2
NH. . .	17,82	1 320
NT. . .	18,34	1 359

NR pour 100 de NT, 2,8

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 5{,}1 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 4{,}9$$

Expérience n° 7 : souriceaux de 12 heures (35 millimètres)

Données expérimentales :

9 souriceaux pesant 18 gr. 945 ; poids moyen, 2 gr. 105.
Hydrolysé par 500 cc³ de H^2SO^4 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 847 gr. 5.
Poids de la prise pour détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 817 gr. 5.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 14 mmgr. 7.
NH pour la prise trouvé, 11 mmgr. 2; pour l'ensemble, 316 mmgr. 4.
NP pour la prise trouvé, 9 mmgr. 5 ; pour l'ensemble, 9 mmgr. 84.
NT : 14 mmgr. 7 + 316 mmgr. 4 = 331 mmgr. 1.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,09	51,93
NH. . .	35,1	1 685
NT. . .	36,7	1 787

NR pour 100 de NT, 4 mmgr. 4.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 3,2 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 3,06$$

Expérience n° 8 : souris de 5 jours

Données expérimentales :

Nombre d'animaux, 6; poids total, 18 gr. 006; poids moyen, 3 gr. 001.
Hydrolyse par 800 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 583 gr.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 90 gr.
— — de NP, 2 493 gr.

Résultats :

NR de l'ensemble, 21 mmgr. 5.
NH trouvé, 14 mmgr. 0; calculé pour l'ensemble, 401 mmgr. 8.
NP trouvé, 9 mmgr. 45; calculé pour l'ensemble, 9 mmgr. 80.
NT : 21 mmgr. 5 + 401 mmgr. 8 = 423 mmgr. 3.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,633	54,4
NH. . .	66,96	2 231
NT. . .	70,55	2 350

NR pour 100 de NT, 5,1.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,5 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2,37$$

Expérience n° 9 : souris de 8 jours

Données expérimentales :

7 souris : poids total, 24 gr. 57; poids moyen, 3 gr. 51.
Hydrolyse par 1000 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 2 222 gr. 5.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 60 gr.
— — de NP, 2 162 gr. 5.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 35 mmgr. 3.
NH trouvé, 15 mmgr. 5; calculé pour l'ensemble, 574 mmgr. 15.
NP trouvé, 13 mmgr. 38; calculé pour l'ensemble, 13 mmgr. 76.
NT : 35 mmgr. 3 + 574 mmgr. 15 = 609 mmgr. 45.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	1,96	56
NH. . .	82,02	2 336
NT. . .	87,06	2 480

NR pour 100 de NT, 5,8.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,45 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2,31$$

Expérience n° 10 : souris de 19 jours

Données expérimentales :

2 souris : poids total, 12 gr. 257; poids moyen, 6 gr. 128.
Hydrolyse par 600 cc³ de SO^4H^2 à 30 p. 1000.
Poids de l'ensemble du liquide, 776 gr. 9.
Poids de la prise pour la détermination de NH, 30 gr.
— — de NP, 746 gr. 9.

Résultats :

NR pour l'ensemble, 20 mmgr.
NH trouvé, 11 mmgr. 9; calculé pour l'ensemble, 308 mmgr. 17.
NP trouvé, 6 mmgr. 8; calculé pour l'ensemble, 7 mmgr. 07.
NT : 308 mmgr. 17 + 20 mmgr. = 328 mmgr. 17.

Calculs :

	Par embryon.	Pour 100 gr. frais.
	mmgr.	mmgr.
NP. . .	3,53	57
NH. . .	154,08	2 514
NT. . .	164,08	2 677

NR pour 100 de NT, 6,09.

$$\frac{NP \times 100}{NH - NP} = 2,34 \qquad \frac{NP \times 100}{NT - NP} = 2,2$$

Dans le tableau XXII on trouvera réunis les résultats des expériences concernant la souris.

TABLEAU XXII

Résultats des expériences concernant le développement de la souris.

NUMÉRO de L'EXPÉRIENCE.	LONGUEUR DES EMBRYONS en millimètres.	AGE DES SOURICEAUX en jours.	NOMBRE D'ANIMAUX utilisés dans le dosage.	POIDS MOYEN D'UN ANIMAL en grammes.	PAR EMBRYON.			POUR 100 GR. FRAIS.			$\frac{NR \times 100}{T}$	$\frac{NP \times 100}{NH - NP}$	$\frac{NP \times 100}{NT - NP}$
					NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.	NT En milligr.	NH En milligr.	NP En milligr.			
1	12	»	33	0,224	2,9	2,83	0,25	1 292	1 261	111	2,4	9,71	9,45
2	17	»	12	0,522	7,38	7,18	0,54	1 290	1 255	95,67	2,7	8,2	8
3	18-19	»	13	0,652	12,02	11 61	0,867	1 842	1 779	132,9	3,3	8,07	7,77
4	23	»	6	0,872	15,43	15,06	0,92	1 769	1 702	105,4	2,37	6,5	6,3
5	28	»	6	1,186	19,87	19,29	1,028	1 675	1 626	86,7	2,9	5,6	5,4
6	29,5	»	5	1,350	18,34	17,82	0,86	1 359	1 320	64,2	2,8	5,1	4,9
7	35	0,5	9	2,105	36,7	35,1	1,09	1 787	1 685	51,93	4,4	3,2	3,06
8	»	5	6	3,001	70,55	66,96	1,633	2 350	2 231	54,4	5,1	2,5	2,37
9	»	8	7	3,51	87,06	82,02	1,96	2 480	2 336	56	5,8	2,45	2,31
10	»	19	2	6,128	164,08	154,08	3,53	2 677	2 514	57	6,09	2,34	2,2

CHAPITRE VI

UTILISATION DES RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

On trouvera dans ce chapitre l'utilisation des résultats rassemblés dans les tableaux qui résument nos protocoles expérimentaux. Nos chiffres nous ont permis de construire des courbes qui rendront plus facile l'interprétation des phénomènes étudiés et notamment les changements de valeur du RNP au cours de la vie embryonnaire.

Notre étude du développement du poulet étant particulièrement complète, nous avons pu calculer les accroissements et variations d'intensité de l'accroissement chez cette espèce pour le poids, l'azote total et l'azote purique. Les résultats obtenus ont permis d'établir des courbes qui figurent également ici; celles qui concernent la croissance du porc et de la souris n'ont pas été rapportées, mais on peut les construire facilement à l'aide de nos données numériques. Les faits qu'elles mettent en évidence sont superposables, dans l'ensemble, à ceux que l'on constate chez le poulet.

I. — Embryon de poule

Il nous faut attirer une fois de plus l'attention sur le fait que toutes nos déterminations de poids, d'azote total, d'azote purique, sont faites sur des embryons de poule *sans membranes*. Le nombre de nos déterminations sur embryons *munis de membranes*, étant trop petit, nous n'avons pu donner dans chaque cas deux courbes traduisant l'aspect que prennent les faits quand on les étudie dans ces doubles conditions expérimentales. Nous avons

comblé ces lacunes dans la mesure du possible en utilisant les chiffres de Fridericia là où nous le pouvions.

Le tableau ci-dessous (tableau XXIII) emprunté à Hasselbalch permettra de se faire une idée des modifications qu'apporteraient aux courbes de croissance pondérale la prise en considération des membranes ; cet auteur [68] a d'ailleurs établi de telles courbes comparatives. Si le poids absolu des membranes va croissant au fur et à mesure du développement, leur importance relative va déjà diminuant à partir du 8e jour comme le montre la chute des valeurs du rapport figurant dans la colonne 4.

TABLEAU XXIII

D'après Hasselbalch (68, page 368).

Évolution des membranes embryonnaires au cours du développement du poulet.

JOURS d'incubation.	POIDS des membranes en grammes.	POIDS CALCULÉ des embryons + membranes.	RAPPORT $\frac{\text{Poids embryon + membranes}}{\text{Poids embryon}}$
8	0,880	2,301	1,917
9	1,070	3,370	1,652
10	1,475	4,662	1,613
15	1,283	13,612	1,108
16	1,770	17,157	1,128
17	1,753	19,425	1,110
18	1,907	23,484	1,090

Leur importance est beaucoup plus grande par rapport au poids que par rapport à l'azote total car elles sont très riches en eau ; l'allantoïde qui contient 98 p. 100 d'eau au 8e jour en contient encore 92 p. 100 au 18e jour d'incubation.

Disons, pour n'avoir plus à y revenir, que si on néglige les membranes les courbes de croissance ne changent pas considérablement d'aspect et que les accidents apportés vers le 16e jour du développement par leur évolution disparaissent. Leur exclusion

doit être considérée comme souhaitable si l'on veut se faire une représentation exacte des faits concernant la synthèse de l'acide nucléinique au cours de la vie embryonnaire, du point de vue physicochimique tout au moins.

A. — Rapport nucléo-plasmatique

Les valeurs du rapport nucléoplasmatique établies par nos recherches montrent que du 8e jour de l'incubation à l'éclosion *ce rapport va diminuant constamment dans l'organisme entier*[1]. Que l'on ramène les chiffres d'azote aminopurique à l'azote total ou à l'azote hydrolysé, les résultats sont identiques; le rapport tombe de 10,7 à 3,06 dans le premier cas et de 11,05 à 3,28 dans le second. On trouvera dans la figure 3 [p. 139] une courbe qui permet de saisir la chute progressive du RNP chez l'embryon de poule; l'âge des embryons est porté en abscisses, les valeurs du rapport $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$ en ordonnées.

On voit que cette chute, très brusque entre le 8e et le 13e jour, devient moins rapide entre le 13e et le 21e, puis la courbe tend à devenir asymptotique à l'axe des x si l'on prend en considération le fait que 22 jours après l'éclosion le poussin possède un RNP de 2,31.

La courbe en trait plein est une courbe théorique passant autant que possible à distances égales des points obtenus par les dosages. Si ces points ne sont pas tous sur la courbe, il faut surtout en chercher la raison dans le fait que ces déterminations étant fort laborieuses nous en avons fait un nombre relativement petit (Soit 13 pour cette courbe). Il ne faut pas perdre de vue que les dosages concernant les premiers stades ont la valeur de *moyennes* (dosage sur 18 embryons du 8e jour, 10 embryons du 9e jour, etc), d'où leur grande exactitude. A partir du 16e jour au contraire chaque dosage ne concerne qu'un seul embryon.

1. Voir le tableau XVIII, p. 104 (col. 12 et 13).

En dépit du nombre restreint de nos dosages la courbe est très

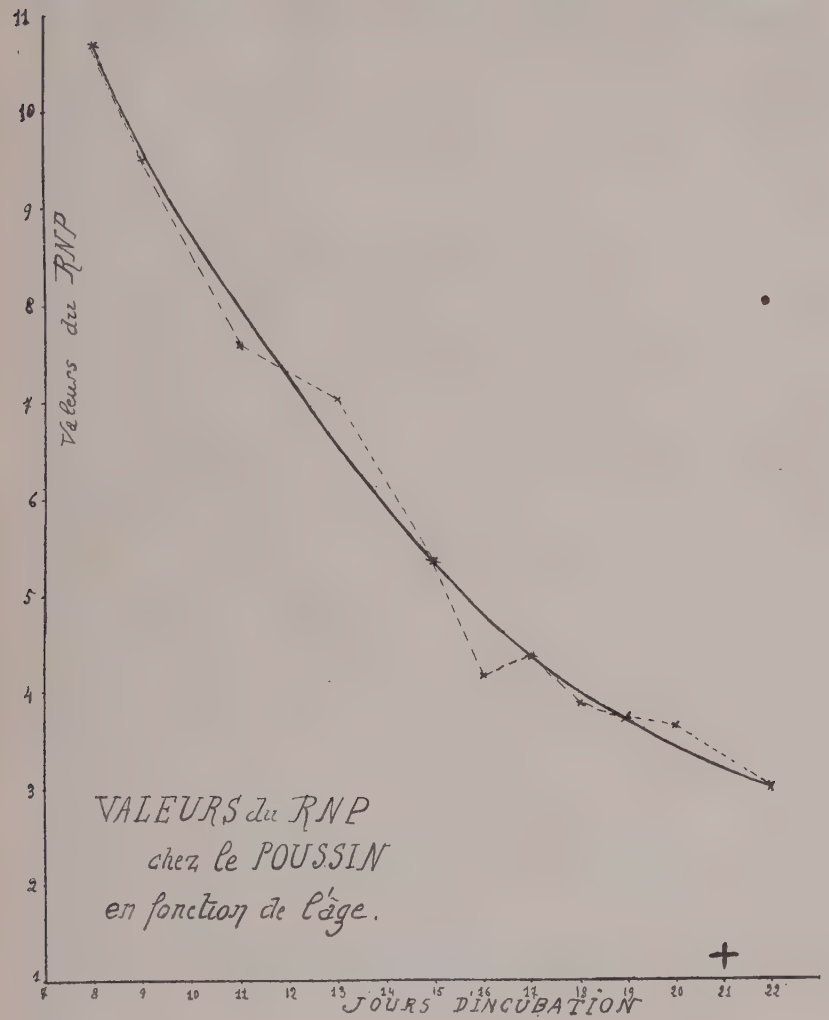


Fig. 3.

Le rapport utilisé est $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$; les valeurs sont extraites du tableau XVIII, col. 13 (embryons sans les membranes).

satisfaisante : *jamais un embryon plus vieux qu'un autre ne possède un RNP plus élevé.*

Du 16e au 17e jour on constate un accident; cette époque correspond à un moment critique de la vie embryonnaire[1]. Dans

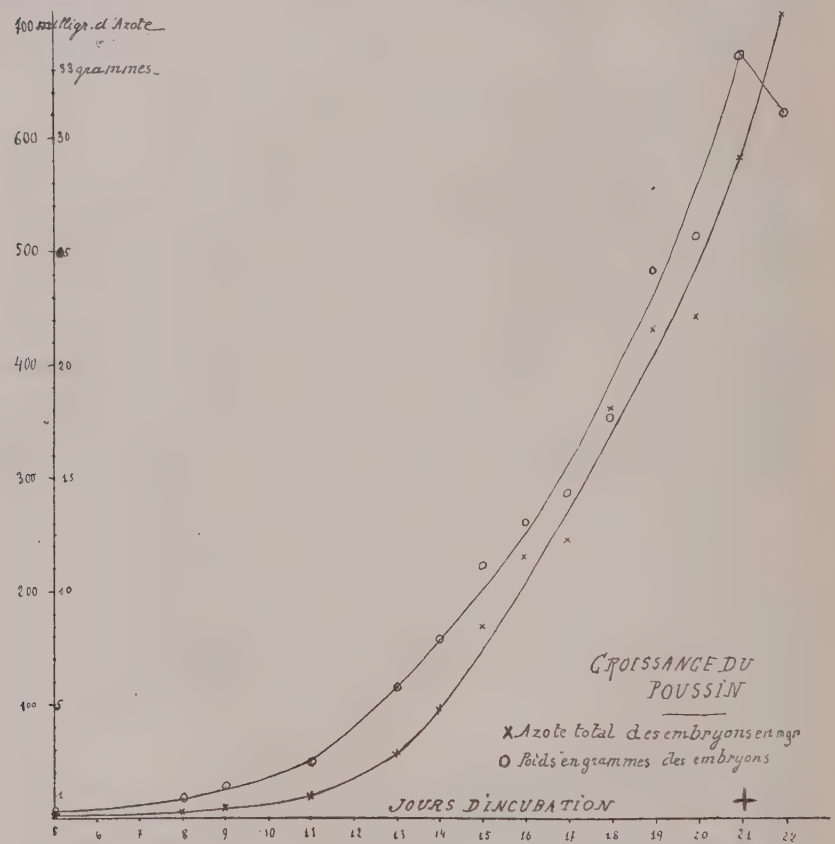


Fig. 4.
Courbes de croissance de l'embryon de poule (*Leghorn blanche*) (embryons sans les membranes).

cette phase préparatoire à l'éclosion les membranes perdent de leur importance physiologique, et cette régression s'accompagne de phénomènes qui retentissent sur la vitesse de chute du RNP.

1. Voir les accidents de la courbe de formation de l'azote purique de Friedericia. (Courbe de la figure X, p. 148).

TABLEAU XXIV

Accroissement journalier de l'embryon de poulet (sans les membranes) en poids, azote total, azote purique. Chute journalière du RNP (Tous les chiffres sont obtenus d'après les courbes théoriques).

AGE EN JOURS.	POIDS DES EMBRYONS en grammes.	ACCROISSEMENT DU POIDS pour 24 heures par embryon.	ACCROISSEMENT DU POIDS pour 24 heures et p. 100.	AZOTE TOTAL DES EMBRYONS en milligr.	ACCROISSEMENT DE NT pour 24 heures et par embryon.	ACCROISSEMENT DE NT par 24 heures et pour 100.	AZOTE PURIQUE DES EMBRYONS en milligr.	ACCROISSEMENT DE NP pour 24 heures par embryon.	ACCROISSEMENT DE NP pour 24 heures et p. 100.	VALEUR du RAPPORT $\frac{NP \times 100}{NP - NP}$	CHUTE de ce RAPPORT par 24 heures.
5	0,251			1,46			»			»	
		0,199	79		0,64	43		»	»		»
6	0,450			2,1			»			»	
		0,150	33		1,9	90		»	»		»
7	0,600			4			»			»	
		0,310	51		2,5	62		»	»		»
8	0,910			6,5			0,561			10,7	
		0,88	96		1,5	23		0,07	24		1
9	1,3			8			0,70			9,7	
		0,50	38		4,5	56		0,20	28		0,9
10	1,8			12,5			0,90			8,8	
		0,70	38		6,3	50		0,43	47		0,7
11	2,5			18,8			1,33			8,1	
		1,3	52		13,2	70		0,92	69		0,8
12	3,8			32			2,25			7,3	
		1,9	50		25,5	79		1,55	68		0,6
13	5,7			57,5			3,8			6,65	
		2,15	37		44,5	77		1,75	51		0,65
14	7,85			102			5,75			6	
		2,35	29		52	50		1,85	32		0,6
15	10,2			154			7,6			5,4	
		2,5	24		58	37		1,9	25		0,5
16	12,7			212			9,5			4,9	
		2,3	18		53	25		1,9	20		0,5
17	15			265			11,4			4,4	
		3	20		57	21		1,85	16		0,35
18	18			322			13,25			4,05	
		4,2	23		68	21		2	15		0,27
19	22,2			390			15,25			3,78	
		5,3	23		85	21		1,45	9,5		0,28
20	27,5			475			16,7			3,5	
		5,9	21		102	21		2,3	13		0,27
21 †	33,4			577			19			3,23	
		»	»		124	21		1,89	9,9		0,27
22	»			701			20,89			3,06	

Dans la colonne 12 du tableau XXIV on trouvera les chiffres qui expriment les valeurs de chute journalière du RNP

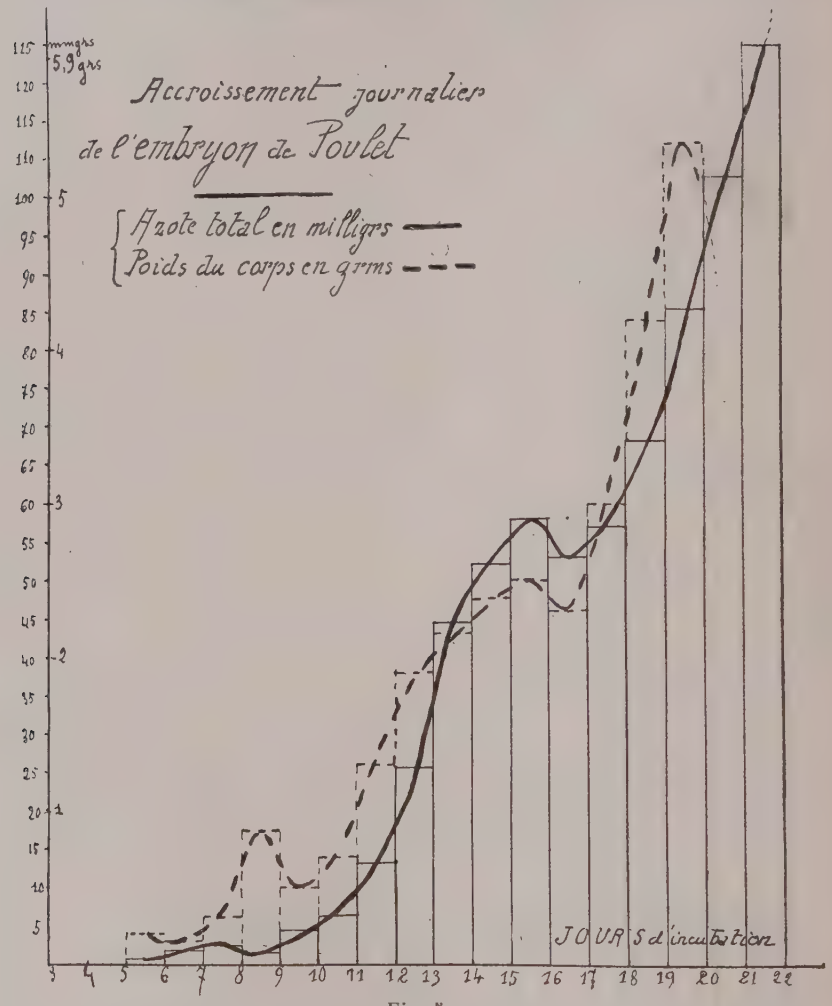


Fig. 5.
Courbes établies en utilisant les chiffres du tableau XXIV, p. 141, col. 3 et 6 (embryons sans les membranes).

entre le 8e et le 22e jour[1]. La vitesse de cette chute va diminuant

1. Il va de soi que ces chiffres sont calculés sur la *courbe théorique* de la figure 3.

sans cesse. La courbe qui traduit cette vitesse décroissante n'a pas été rapportée, car elle ne présente aucun point singulier.

B. — Courbes de croissance

1° Croissance pondérale. — Nos résultats expérimentaux ont servi à établir la courbe de la figure 4 (p. 140) exprimant la

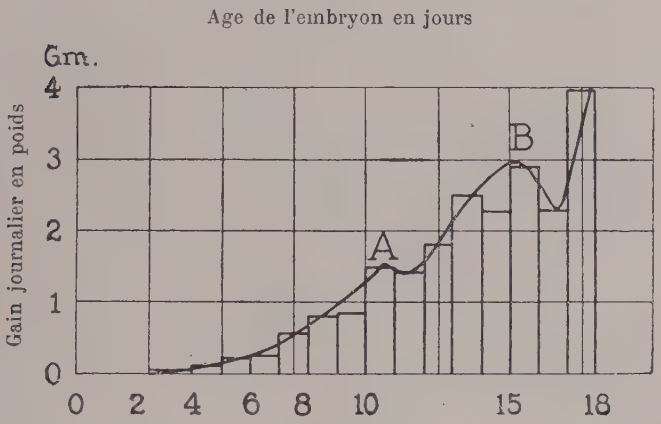


Fig. 6.
Croissance de l'embryon de poulet en poids ; courbe de Brody (24), d'après les résultats de Lamson et Edmond.

croissance en poids des embryons de la race *Leghorn blanche*. Les poids des embryons jeunes représentant des moyennes on comprend facilement que pour les premiers stades les courbes expérimentale et théorique se confondent. La chute classique de poids qui suit la naissance chez les mammifères se retrouve, on le voit, chez les oiseaux. Cette courbe de croissance pondérale est identique à celles qu'on pourrait établir avec les résultats de nos devanciers, ou qu'ils ont établies eux-mêmes pour d'autres races (Hasselbalch ; Lamson et Edmond ; Card et Kirkpatrick).

La courbe de la figure 5 (p. 142), en trait interrompu, montre la

marche des accroissements de poids journaliers de nos embryons[1]. Cette courbe à trois cycles est intéressante à rapprocher 1° de celles

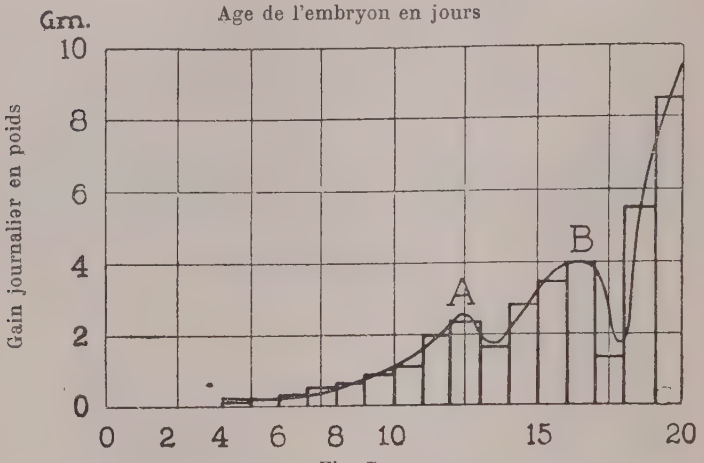


Fig. 7.

Comme la figure 5, mais d'après les régultats d'Hasselbalch (68) (embryons sans membranes).

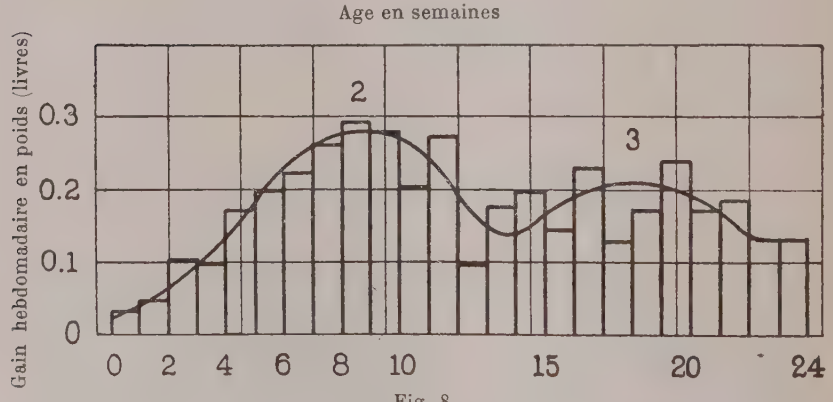


Fig. 8.

Croissance du poussin depuis l'éclosion jusqu'à la 24e semaine (Espèce : *Rhode Island Red fowl*); courbe de Brody (24) d'après les résultats de Card et Kirkpatrick.

qu'a tracées Brody (24) à l'aide de données expérimentales

1. Les accroissements sont calculés d'après la courbe théorique de la figure 4.

empruntées aux auteurs ci-dessus nommés (figures 6 et 7; p. 143 et 144); 2° de la figure 8 (p. 144) qui donne les accroissements de poids journaliers du poussin entre l'éclosion et la 24ᵉ semaine. Nous reviendrons dans le prochain chapitre sur l'interprétation donnée par T. B. Robertson et Brody de ces courbes cycliques ainsi que sur les discussions qu'elles soulèvent.

Au lieu de considérer le gain pondéral journellement réalisé par embryon, on peut le ramener à 100 grammes d'embryon et construire alors des courbes où ces pourcentages de gain figurent en ordonnées, les jours d'incubation étant portés en abscisses. Une telle courbe est représentée (en trait interrompu) dans la fig. 9 (p. 146). Elle montre que les augmentations de poids vif se font avec des intensités inégales d'un jour à l'autre de l'incubation. Dans l'ensemble, l'amplitude de ces oscillations est d'autant moindre que l'embryon est plus développé, l'intensité de la croissance pondérale va en diminuant quand on se rapproche de l'éclosion.

Notre courbe ne commence qu'au 5ᵉ jour; en utilisant les chiffres d'Hasselbalch (68, p. 364) on peut calculer les intensités pour les premiers jours de l'incubation. *On voit que cette intensité est 10 fois plus grande entre le 3ᵉ et le 4ᵉ jour qu'entre le 5ᵉ et le 6ᵉ.*

Nous tirerons de toutes ces constatations la conclusion suivante : au cours du développement embryonnaire, les intensités les plus grandes de l'accroissement pondéral sont contemporaines des valeurs absolues les plus élevées du rapport nucléoplasmatique.

2° *Croissance en fonction de l'azote total.* — Dans la fig. 4 (p. 140), on trouvera une courbe de croissance de l'embryon de poule en fonction de l'azote total. Elle est à peu près parallèle à la courbe des poids. Ce parallélisme n'est caractéristique que de la vie embryonnaire. Il ne se réalise chez certaines espèces que grâce au jeu simultané de la déshydratation, des gains d'azote et de substances minérales, etc.

L'intérêt de cette courbe de croissance réside dans son ascension continue même pendant les 48 heures qui suivent l'éclosion, alors que le poussin ne prend pas de nourriture. La perte de

poids constatée à ce moment ne porterait donc pas sur les éléments azotés.

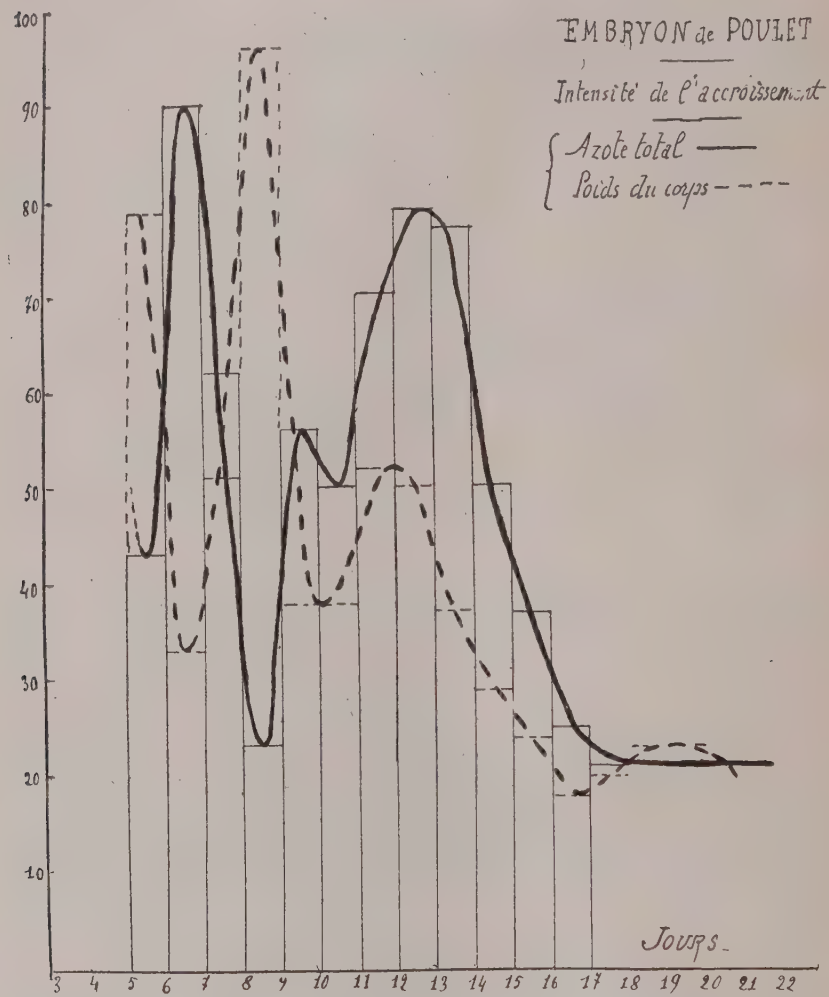


Fig. 9.
Courbes établies en utilisant les chiffres du tableau XXIV, p. 141, col. 4 et 7.

Les courbes en trait plein des figures 5 et 9 (p. 142 et 146) montrent respectivement les accroissements journaliers et les intensités d'accroissement journalier d'azote total. Les courbes

d'accroissement de poids et d'azote sont à peu près parallèles comme on pouvait s'y attendre, et donnent lieu à la production de 3 cycles. La fig. 9 permet de constater un décalage presque constant entre les maxima d'intensité d'accroissement de poids et d'azote total; entre les journées 6-7 et 8-9 les intensités d'accroissement du poids et de l'azote total s'opposent d'une façon absolue.

C. — Synthèse de l'acide nucléinique
(mesurée par la production d'azote aminopurique)

La fig. 10 (p. 148) donne deux courbes montrant la synthèse des matériaux nucléaires au cours du développement de l'embryon de poulet.

La courbe supérieure est due à Fridericia (58). L'azote des aminopurines est celui *de l'embryon et de ses membranes.*

Il nous faut exposer en quelques mots la façon dont Fridericia (58) a obtenu ses chiffres. L'auteur dosait d'abord sur les liquides embryonnaires et les membranes l'acide urique par cristallisation (Salkowski) après hydrolyse sulfurique. Les eaux mères filtrées, contenant les aminopurines des membranes, étaient rajoutées au liquide d'hydrolyse du corps embryonnaire, et c'est sur l'ensemble que l'auteur appliquait la méthode cuivro-argentique.

Sans nous étendre sur la valeur des chiffres ainsi obtenus — puisque nous avons critiqué précédemment les méthodes de séparation de l'acide urique d'avec les aminopurines — nous devons dire pourquoi il nous a été impossible *d'utiliser les chiffres de* Fridericia *pour établir des quotients nucléoplasmiques d'embryons munis de leurs membranes.* Ses chiffres d'azote total et d'azote purique sont obtenus sur des séries *d'animaux différents* dont la race n'est pas indiquée; d'autre part, si nous comprenons bien son texte, l'azote total était fait sur des embryons sans membranes. Si l'on voulait utiliser ses dosages pour établir des RNP chimiques, on était donc conduit à faire le rapport de l'azote purique d'embryons *munis de leurs membranes,* à l'azote

total d'embryons différents *sans membranes*. Les RNP chimiques ainsi établis n'avaient aucun sens[1].

Cette réserve faite, partout où les comparaisons étaient justifiables, nous avons fait figurer les courbes de Fridericia à côté

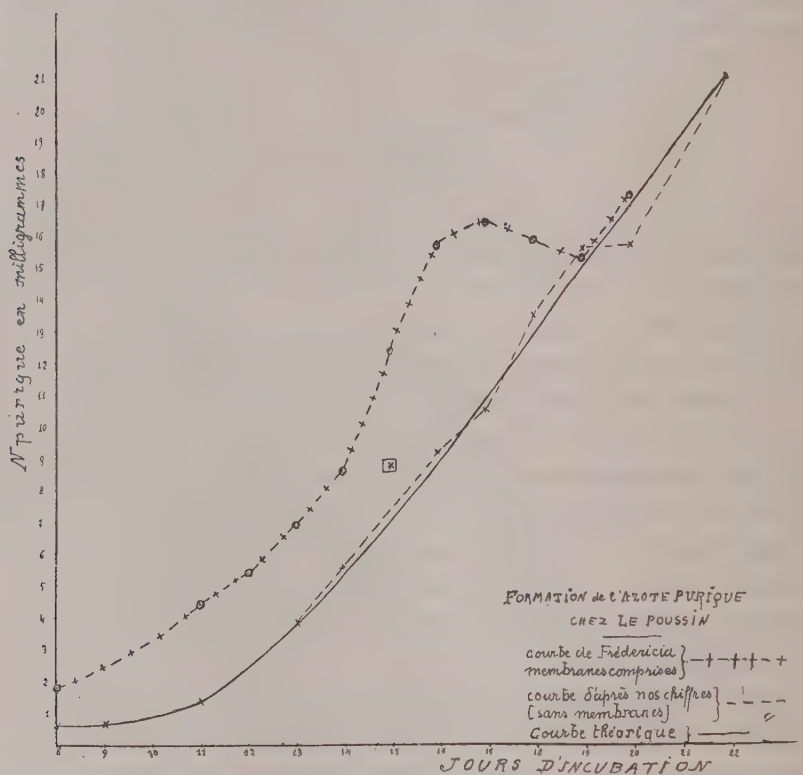


Fig. 10.
Synthèse de l'acide nucléinique au cours du développement embryonnaire chez le poulet (d'après nos chiffres et ceux de Fridericia).

des nôtres, ou bien nous avons établi des courbes en utilisant les dosages faits par l'auteur dans un but différent.

On trouvera dans la fig. 10 la courbe expérimentale et la

1. Le but des belles recherches de Fridericia (58) n'était d'ailleurs pas d'étudier la *Kernplasmarelation* dont le nom n'est même pas prononcé dans son travail.

courbe théorique qui expriment d'après nos dosages la synthèse du matériel nucléaire. Comme toujours, les premiers points représentant la moyenne d'un nombre assez grand d'embryons sont seuls à se placer rigoureusement sur la courbe théorique.

Lente au début, la synthèse des aminopurines va s'accélérant à partir du 10e jour, mais la courbe est toujours plus inclinée sur l'axe des abscisses que celle de l'azote total (fig. 4), la synthèse de ce dernier étant beaucoup plus rapide.

La comparaison de notre courbe avec celle de Fridericia (embryons avec membranes) est fort intéressante; parallèles jusqu'au 14e jour, ces deux courbes s'écartent du 14e au 16e. La courbe de Fridericia monte plus vite pendant cette période; après un piétinement, elle s'abaisse jusqu'au 19e jour pour venir rejoindre la courbe des embryons sans membranes qui ne présente aucun de ces accidents singuliers[1].

Utilisant nos résultats personnels (tableau XXIV, p. 141, col. 9) et ceux de Fridericia (tableau XXV, p. 151) nous avons établi dans la fig. 11 les courbes d'accroissement journalier de l'azote purique par embryon.

Notre courbe personnelle met en évidence une augmentation progressive des accroissements jusqu'au 13e jour; ils se maintiennent, à quelques oscillations près, à la même valeur jusqu'à l'éclosion. Les phénomènes sont beaucoup plus compliqués pour la courbe des embryons avec membranes. Le maximum de vitesse d'accroissement est réalisé vers le 15e jour, puis, comme le faisait prévoir la courbe 10, on a une chute considérable entre le 17e et le 19e jour, moment où les deux courbes se rejoignent.

La complexité de cette courbe est évidemment en rapport avec l'évolution des membranes embryonnaires, et seuls les morphologistes en pourraient vraisemblablement donner une interprétation satisfaisante.

Dans la figure 12 nous donnons les courbes d'intensité d'ac-

1. Nous n'avons pu rapprocher nos chiffres de ceux de Lafayette Mendel et Leawenworth (116) qui n'ont étudié que quelques stades sur des œufs de poule *entiers*, c'est-à-dire sans séparer l'acide urique.

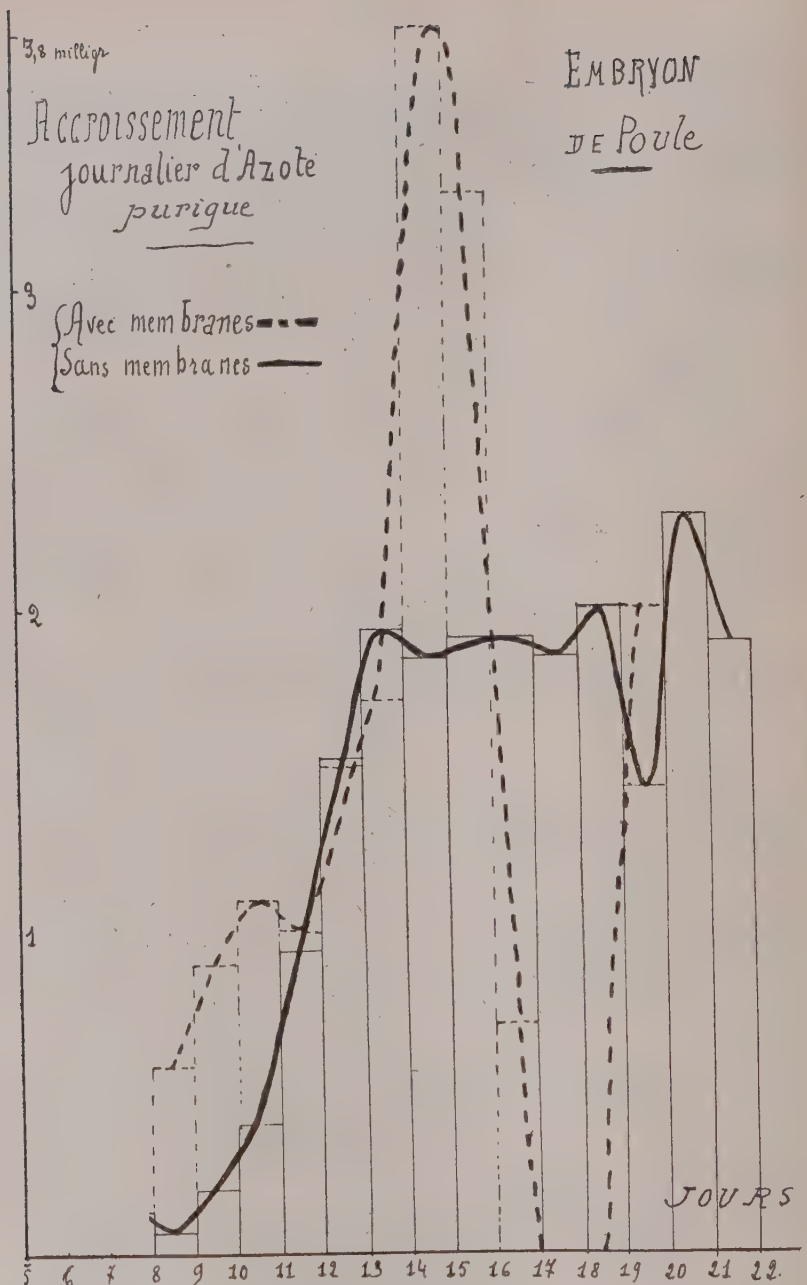


Fig. 11.

La courbe *sans membranes* est établie d'après nos résultats personnels ; la courbe *avec membranes* d'après les chiffres de Fridericia (58, p. 104).

TABLEAU XXV

Teneur des embryons de poulet (membranes comprises) en azote purique, d'après Fridericia (58). Accroissements calculés à partir des chiffres de cet auteur.

AGE en jours.	TENEUR MOYENNE par embryon en NP en milligr.	ACCROISSEMENT PAR 24 HEURES et par embryon en milligr.	ACCROISSEMENT par 24 heures et pour cent.
8	1,8	0,6	33,3
9	2,4 (calculé)	0,9	37,5
10	3,3 (calculé)	1,1	33
11	4,4	1,6	22,7
12	5,4	1,5	27,7
13	6,9	1,7	24,6
14	8,8	3,6	44,1
15	12,4	3,3	26,6
16	15,7	0,7	4,4
17	16,4	— 0,6	— 3,6
18	15,8	— 0,6	— 3,7
19	15,2	2	13,1
20	17,2	»	»

croissement de l'azote aminopurique établies d'après nos chiffres et ceux de Fridericia. Les gains journaliers sont calculés pour 100 grammes d'azote purique (Tableau XXIV, colonne 10 ; tableau XXV, colonne 4), de même que les gains d'azote total ou de poids vif étaient ramenés à 100 grammes d'azote total ou de poids vif.

Pour calculer les intensités à chaque moment du développement, il faut faire choix, en effet, d'une « unité d'embryon ». Cent grammes d'azote purique nous semblent ici l'unité la plus défendable ; si 100 grammes de poids vif d'embryon du 8e jour ne sont pas l'équivalent de 100 grammes au 22e jour, au contraire 100 grammes d'acide nucléinique restent comparables à eux-mêmes. En opérant ainsi on a une représentation du nombre d'unités cellulaires et les variations d'intensité des syn-

thèses sont exprimées en fonction d'un terme qui a un sens physiologique.

Dans le cas des embryons sans membranes on obtient une courbe en cloche, parfaitement symétrique, présentant son maximum au 12e jour. Nous reviendrons dans le chapitre VII sur la signification de cette courbe qui nous paraît être de beaucoup la plus intéressante de celles que nous avons établies.

La courbe de comparaison simultanément construite avec les chiffres de Fridericia présente encore entre le 17e et le 18e jour l'accident auquel on pouvait s'attendre; il exprime sans doute une régression des matériaux nucléaires contenus dans les membranes, dont l'importance et le rôle embryologique se modifient considérablement peu de temps avant la naissance. La présence des membranes nous paraît bien masquer ici des phénomènes de haute importance concernant la réaction de synthèse de l'acide nucléinique.

II. — Embryon de porc

Pour la vie embryonnaire du porc, nous nous sommes limités à donner dans la fig. 13 (p. 154) les courbes de chute du RNP en fonction des longueurs[1]. Les valeurs du rapport $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$ ont été tirées des tableaux XIX et XX. La courbe supérieure a été établie par la méthode double cuivrique telle que nous l'avons décrite (p. 89); la courbe inférieure — en pointillé — a été obtenue par la méthode cuivro-argentique sur des matériaux hydrolysés par H^2SO^4 à 40 p. 1 000. Nous considérons la courbe obtenue par la double cuivrique après hydrolyse à 30 p. 1 000 comme exempte de certaines erreurs par défaut que donne l'autre méthode; le sens des phénomènes reste cependant bien le même dans les deux cas.

Dans l'ensemble, on voit que le RNP qui était de 7 chez

1. Dans la courbe de la page 170 les chutes de RNP sont exprimées en fonction des âges.

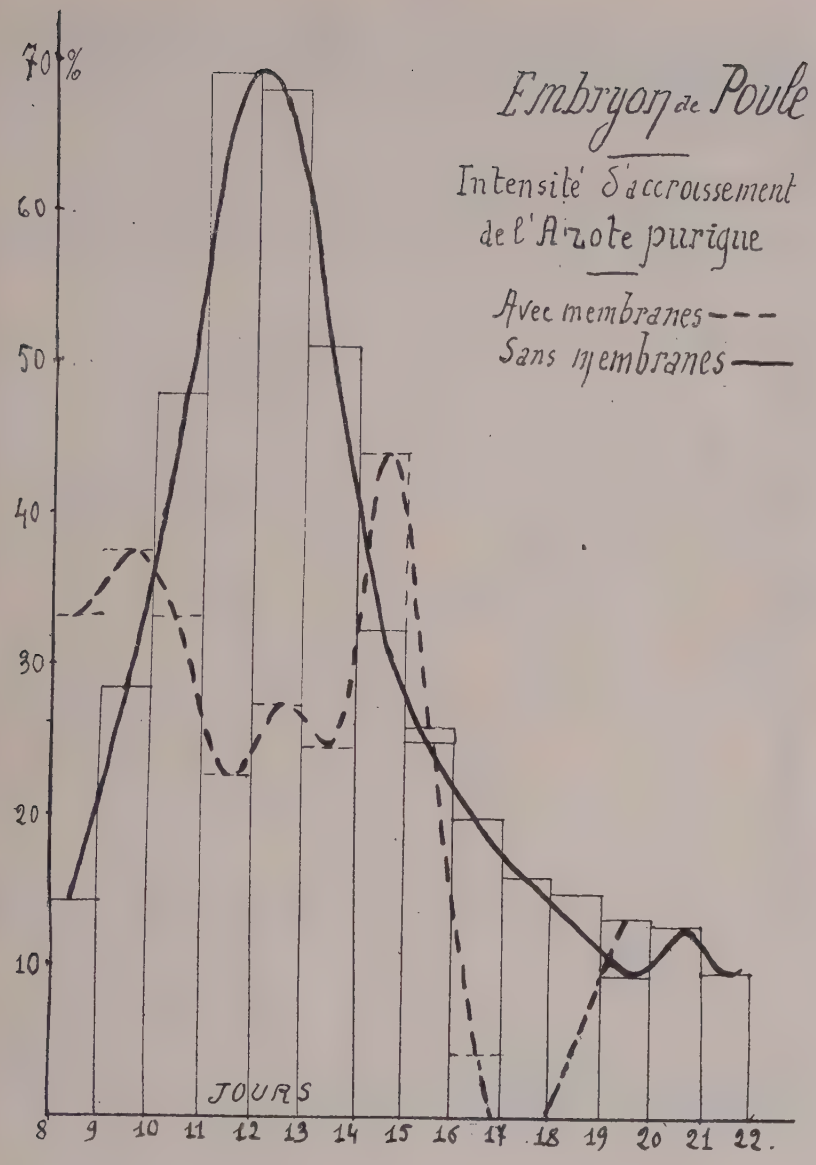


Fig. 12.

La courbe *sans membranes* est établie d'après nos résultats personnels ; la courbe *avec membranes* d'après les chiffres de Friderica (58, p. 104).

Par suite d'une erreur la courbe en trait plein qui devrait partir entre le 8e et le 9e jour de 04 p. 10, part de 14 p. 100.

l'embryon de 20 millimètres tombe à 2 pour l'embryon de 250 millimètres. Les deux courbes montrent au départ un crochet sur la signification duquel nous aurons à revenir ultérieurement.

Ici encore notons que les courbes obtenues sont identiques si l'on considère les RNP établis d'après la formule $\frac{NP \times 100}{NH - NP}$. La

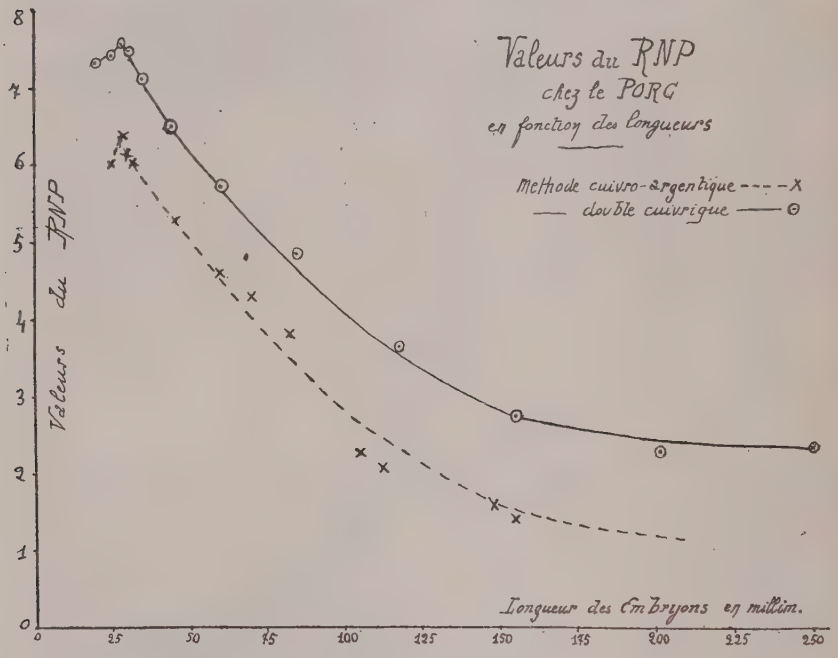


Fig. 13.
Courbe construite d'après nos chiffres, tableaux XIX et XX, pages 114 et 123.

quantité d'azote dit « non hydrolysé » est dans un rapport constant avec celui qui passe dans les filtrats d'hydrolyse et ne représente jamais plus de 5 p. 100 de l'azote total.

III. — Embryon de souris

Dans la fig. 14 (p. 155) on trouvera la courbe de chute des valeurs du RNP en fonction des poids pour l'embryon de souris,

et pour le souriceau jusqu'au doublement du poids initial. Cette figure est construite à l'aide des valeurs consignées dans le tableau

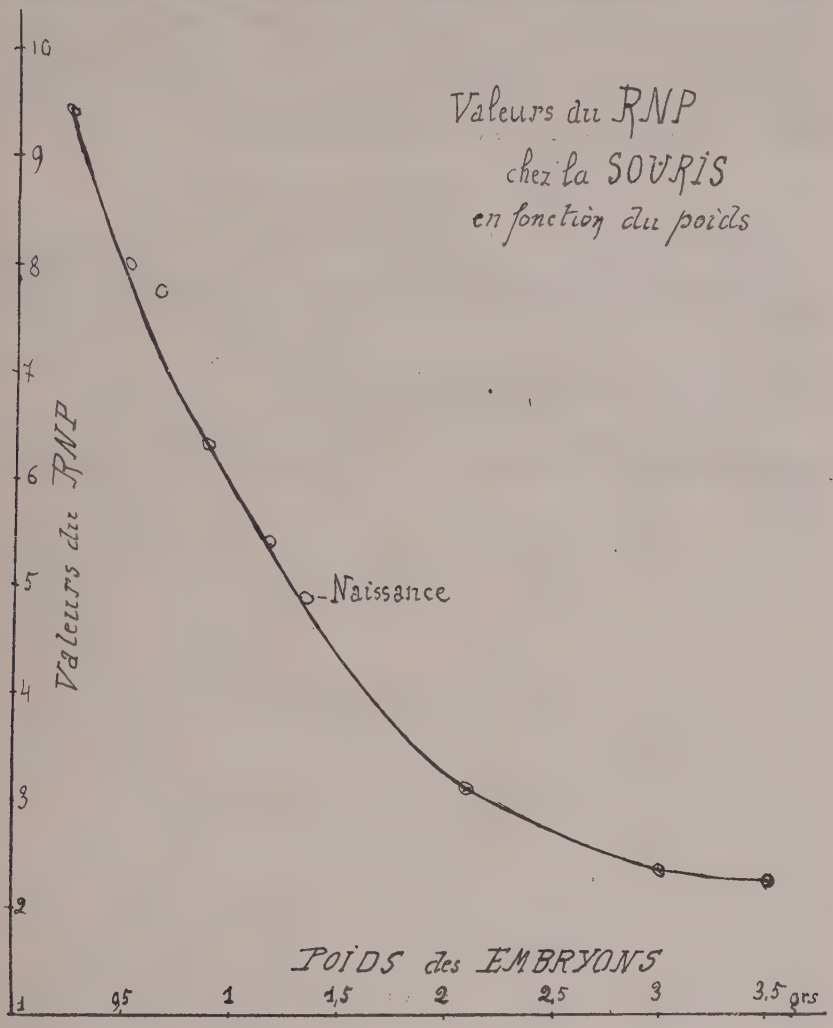


Fig. 14.
Courbe construite d'après nos chiffres, tableau XXII, p. 135, col. 14.

XXII de la p. 135 (col. 14). N'ayant pas l'âge exact des embryons, nous pouvions établir la courbe en fonction soit des poids, soit des longueurs. Ces deux courbes ne diffèrent pas sensiblement.

Chez la souris nous avons affaire comme chez le poulet à un développement condensé; la chute du RNP est rapide; il tombe de 9,45 chez l'embryon de 12 millimètres à 2,2 chez le souriceau de 19 jours. A ce moment la courbe devient asymptotique à l'axe des x. La chute du RNP est encore nette chez cet animal dans les premiers jours qui suivent la naissance.

***

Telle est l'utilisation que nous avons faite des résultats rassemblés dans le chapitre V; nous avons cru bon d'établir simultanément les rapprochements que l'on a vus avec les travaux antérieurs sur la croissance du poulet.

Nous allons examiner dans le chapitre suivant la signification biologique des phénomènes mis en évidence par nos constatations.

CHAPITRE VII

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS PROBLÈMES SOULEVÉS PAR LA DÉTERMINATION BIOCHIMIQUE DU RAPPORT NUCLÉO-PLASMATIQUE

1° Lois de l'Évolution du RNP et lois de la Cytomorphose

Arrivés au terme de ce travail nous devons nous demander quelle signification profonde doit être donnée au RNP déterminé suivant notre méthode, ainsi qu'à son évolution durant le développement des organismes. Ce n'est qu'après avoir formulé ces interprétations que nous pourrons savoir si ce rapport est d'utilisation féconde.

N'oublions pas que nous nous sommes limités dans les recherches présentes à l'étude d'un *premier type de quotient nucléoplasmique* qui nous donne le rapport de la masse du noyau à la masse du cytoplasme, paraplasme compris. Ce rapport est de contenu plus précis que le rapport volumétrique des morphologistes, mais n'en diffère cependant pas essentiellement. Si rassemblant nos déterminations quantitatives nous arrivons à en tirer des conclusions qui prennent forme de lois, elles devront se superposer pour une grande part à des lois ontogénétiques régissant l'évolution de l'individu. Elles les préciseront peut-être en les exprimant dans un autre langage.

Quelles lois pouvons-nous tirer de nos résultats expérimentaux ? Les suivantes :

1° Durant l'évolution embryonnaire, les cellules possèdent une relation nucléoplasmique d'autant plus grande qu'elles sont

plus jeunes. La valeur de ce rapport est d'autant plus basse que les cellules sont plus vieilles, plus différenciées.

2° La chute du RNP est due à ce que le dénominateur croît plus vite que le numérateur. La synthèse des substances nucléaires se fait moins vite que celle des matériaux cytoplasmiques.

3° La chute inéluctable et progressive du RNP se fait plus ou moins vite, à partir d'une valeur initiale plus ou moins haute suivant les espèces considérées; mais elle se fait toujours dans le même sens.

4° La valeur absolue du RNP global d'un embryon caractérise aussi étroitement le stade évolutif que la longueur ou l'âge eux-mêmes.

5° La chute des valeurs du RNP dans le temps est un phénomène irréversible.

6° Les valeurs du RNP sont différentes pour les différents tissus d'un embryon d'âge déterminé ; elles sont en rapport avec la nature des cellules et le degré de différenciation qu'elles ont atteint[1]. Le quotient nucléoplasmatique de l'embryon entier n'est que la moyenne de toutes ces valeurs particulières.

7° Plus les cellules sont jeunes et de RNP élevé, plus la vitesse des synthèses formatrices de substance vivante, dont elles sont le siège, est considérable.

Nous allons montrer que les lois qui résument nos résultats expérimentaux se superposent à celles que formula en 1908 le grand biologiste Charles Sedgwick Minot et qu'il appelle lois de la Cytomorphose (**118**).

Qu'est-ce que la Cytomorphose? C'est l'ensemble de toutes les transformations évolutives qui se passent dans les cellules depuis le « rajeunissement », l'augmentation de substance nucléaire dont l'œuf fécondé est le siège, jusqu'à la mort naturelle provoquée par la sénescence. La cytomorphose est essentiellement caractérisée par la différenciation, qui fait peu à peu des blastomères initiaux

1. Les données expérimentales étayant cette affirmation paraîtront ailleurs.

des éléments cellulaires à caractère étroitement spécifique.

Quelles sont les lois de la cytomorphose? Les voici d'après Minot :

1° Il n'existe pour les cellules qu'un mode unique de rajeunissement : l'augmentation de substance nucléaire qui précède la cytomorphose.

2° La cytomorphose commence à la cellule indifférenciée ; la sénescence a pour signe la différenciation elle-même, *c'est-à-dire l'augmentation progressive du protoplasme.*

3° La cytomorphose conduit inéluctablement les cellules à la mort naturelle ou physiologique. Elle se fait toujours dans le même sens. Jamais une cellule différenciée ne retourne vers un stade de différenciation moindre.

4° La cytomorphose se produit avec des vitesses différentes suivant les tissus considérés ; tous les stades en peuvent être constatés simultanément chez un même individu.

5° La vitesse de différenciation et la croissance sont en raison inverse du degré de sénescence.

On ne peut qu'être frappé du parallélisme existant entre les lois de Minot et les nôtres. Nous n'avons qu'à tirer du rapprochement établi les conclusions qui s'imposent :

La cytomorphose est essentiellement caractérisée par la chute inéluctable et progressive du rapport nucléoplasmatique établi en fonction des masses.

La morphologie et la physiologie sont ici complètement d'accord ; les lois de la cytomorphose, exprimées en langage biochimique, s'éclairent singulièrement.

Plus une cellule est jeune, plus elle contient proportionnellement d'acide nucléinique. Le seul procédé de rajeunissement est l'enrichissement en acide nucléinique, conduisant à un relèvement de valeur du RNP.

La chute du RNP commence à la cellule indifférenciée. La sénescence ne fait que traduire l'abaissement progressif des valeurs de ce quotient, provoqué par l'augmentation relative du cytoplasme ; cet abaissement est irréversible comme la cytomor-

phose elle-même. La vitesse de décroissance du RNP est caractéristique du tissu considéré ; elle est d'autant plus rapide que les lignées cellulaires sont plus jeunes, plus éloignées de la sénescence.

Si le rapport nucléoplasmatique établi en fonction des masses se superpose à celui des morphologistes c'est parce qu'on l'exprime en fonction de l'ensemble protoplasme + paraplasme. Les lois de l'évolution d'un RNP établi en fonction d'un élément protoplasmique représentatif de la masse active se sépareraient profondément des lois de la cytomorphose.

Mais déjà le rapport étudié fait plus qu'éclairer les règles de l'évolution cellulaire fixées par Minot. Avec la possibilité de mesurer quantitativement la « substance nucléaire » par l'acide nucléinique, s'ouvrent des voies expérimentales nombreuses et sûres. On passe dans le domaine de la dynamique et la liaison avec les problèmes du métabolisme se fait d'elle-même.

2° Le RNP et la segmentation

Par suite de nécessités expérimentales précédemment exposées, on a vu que nos courbes de chute du RNP commencent à un stade avancé du développement embryonnaire, alors que l'organogenèse est déjà terminée.

Ces courbes étant incomplètes, une question se posait impérieusement à nous : à quel stade placer le début de la chute? Le RNP le plus élevé est-il réalisé dans l'œuf fécondé, la blastula, la gastrula, ou plus tard? Les lacunes s'étendant de la fécondation à nos premiers dosages doivent être comblées.

A. *A quel stade du développement embryonnaire commence la chute du RNP chimique?* — Essayons tout d'abord de répondre à la question posée en adoptant une hypothèse simple, qui permette de se représenter logiquement les faits. Nous la rejetterons plus tard si l'expérience ne la confirme pas.

R. Hertwig a insisté depuis longtemps sur le fait que, de toutes les cellules vivantes, l'œuf mûr avait la *Kernplasmarelation* la

plus petite, le spermatozoïde, la plus grande. Par la fécondation, et l'accroissement du matériel nucléaire qui la suit, le RNP augmente de valeur dans les cellules jusqu'au stade blastula C'est le « rajeunissement » de Minot préparatoire à toute cytomorphose. Ce rajeunissement est une période de *mise en charge:* l'acide nucléinique se forme aux dépens du cytoplasme qui diminue. Dans cette hypothèse la détermination chimique du RNP en fonction des masses donnerait une courbe *ascendante* jusqu'à la blastula, dont les cellules posséderaient le plus haut potentiel. Suivant un certain régime de décharge se formeraient alors à partir de ces éléments les différents feuillets, les ébauches, les organes avec leurs tissus différenciés. C'est durant cette période que se ferait la chute progressive du rapport nucléoplasmatique tel que nous l'établissons.

Une telle représentation des faits ne cadre que très imparfaitement avec celle des embryologistes. Deux points sont particulièrement à relever :

1° Tous les morphologistes semblent d'accord pour admettre qu'au stade blastula « la relation nucléoplasmatique caractéristique de l'espèce est atteinte ». Que faut-il entendre par là? Le rapport $\frac{\text{volume du noyau}}{\text{volume du cytoplasme}}$ que mesurent ces expérimentateurs est-il donc le même pour les cellules de la blastula que pour celles de tous les tissus embryonnaires ou adultes? Certainement non d'après les histologistes eux-mêmes. Qu'est-ce donc alors que le RNP volumétrique *caractéristique de l'espèce?*

2° Si les expérimentateurs sont d'accord pour admettre que le rapport $\frac{\text{volume du noyau}}{\text{volume du cytoplasme}}$ va croissant de la fécondation au stade blastula, ils ne le sont pas du tout sur la nature du mécanisme par lequel se fait l'augmentation de substance nucléaire.

Y a-t-il ou non synthèse de matériaux nucléaires durant la segmentation de l'œuf? Ce problème est pour nous d'une importance capitale; en le négligeant, nous ne pourrions donner une interprétation valable et complète de l'évolution du RNP durant

le développement. Comme il est à la fois en rapport avec nos recherches en cours et celles que nous publions ici, nous devons en exposer les données.

B. *RNP et synthèse du matériel nucléaire dans l'œuf fécondé.* — L'œuf constituant jusqu'au stade gastrula un système fermé ne recevant rien de l'extérieur chez les espèces où il se développe librement, le matériel nucléaire des cellules néoformées durant la segmentation ne peut provenir que de l'œuf lui-même. Deux théories sont en présence. Pour les uns, le matériel nucléaire, la *nucléine*, se fait par synthèse à partir de composés azotés et phosphorés plus simples contenus dans le cytoplasme. Pour les autres, il n'y a pas de synthèse; la nucléine qu'on retrouve dans les noyaux de la blastula existait préformée dans le cytoplasme de l'œuf mûr. Elle a passé dans les noyaux par une simple *migration*.

Ces deux points de vue sont irréductibles l'un à l'autre, inconciliables.

Jacques Lœb (105) est le promoteur de la première théorie. Si tous les noyaux formés pendant la segmentation ont même taille, il faut que dans la période qui sépare deux divisions successives chaque noyau double son volume. Ceci implique une synthèse de matériel nucléaire qui se ferait suivant une progression géométrique comme la multiplication des cellules elle-même. La synthèse de la nucléine se ferait aux dépens du cytoplasme par un processus soumis aux lois de l'action des masses et de l'équilibre, suivant le type des *réactions monomoléculaires autocatalytiques*.

L'hypothèse de la formation synthétique d'acide nucléinique au cours de la segmentation a provoqué de nombreux travaux. Elle est repoussée par tous les morphologistes et quelques travaux biochimiques la condamnent. Si cette théorie n'a pour elle que son caractère séduisant, les faits qu'on lui oppose ne résistent pas toujours à la critique. Examinons-les.

Sans nous étendre sur les travaux d'Émil Godlewski (62, 63, 64), de Rhoda Erdmann (50, 51), Paolo Enriques (49), Janina

Bury (34), etc., nous citerons tout d'abord le passage suivant dû à la plume autorisée de Brachet (22) qui fera comprendre clairement ce qu'est la théorie de la « migration » :

« Depuis longtemps, on a constaté que dans les premiers stades de la segmentation, et aussi d'ailleurs dans l'œuf fécondé, le cytoplasme absorbe assez fortement les colorants nucléaires. Dès 1882, étudiant la division de l'œuf des Téléostéens, Henneguy constatait que le cytoplasme perd cette propriété au fur et à mesure que le nombre des blastomères augmente et disait explicitement que la chromatine est une substance qui se forme dans le cytoplasme et se fixe dans le noyau.

« Depuis lors de nombreuses recherches ont confirmé et précisé cette notion. Ainsi chez les échinodermes (Godlewski, Masing, Schaxel, J. Bury), il semble bien que le cytoplasme de l'œuf possède une réserve chromatoplastique progressivement utilisée pendant la segmentation et qui ne se renouvelle pas. Elle est complètement épuisée quand les blastomères sont devenus assez nombreux et assez petits pour n'être plus que des cellules de taille normale. Chez l'oursin, il y en a à ce moment 64. Il résulte de tous ces faits que lorsqu'un œuf se segmente son cytoplasme se découpe en des territoires de plus en plus petits en même temps que la réserve chromatique qu'il contient est absorbée par les noyaux. Cette absorption est achevée au moment même où la relation nucléoplasmatique normale est établie dans les blastomères, et où, par conséquent, ceux-ci peuvent prendre le nom de cellules. »

On voit que la théorie de la migration est incompatible comme nous le disions avec toute idée de synthèse. « Au cours des premières périodes du développement, écrit Godlewski (64) il se produit plutôt une organisation, une transformation en matière nucléaire d'éléments localisés temporairement au sein du plasma. »

Les faits observés autorisent-ils vraiment une telle présentation doctrinale? On en peut douter quand on lit dans le détail les mémoires de Godlewski qui s'est fait le champion de cette théorie.

Au cours de la maturation de l'œuf, nous dit cet auteur, le noyau diminue considérablement de volume. Cette réduction est due avant tout à une perte de *suc nucléaire*. L'élimination de la linine du nucléole, celle de la chromatine du noyau des corpuscules polaires sont quantitativement peu de chose. Ces matériaux perdus par le noyau au cours de la maturation sont maintenant passés dans le cytoplasme de l'œuf, et vont suffire à l'édification des 1 200 premiers noyaux formés durant la segmentation! Le volume nucléaire augmente selon Godlewski de 35 unités, du stade 1 au stade 64; de 9 unités seulement du stade 64 au stade 1 200. Durant cette seconde période, *la substance nucléaire se fragmente, mais n'augmente pas*. Mais comme le nombre des chromosomes double à chaque division caryocinétique, l'auteur admet que si la nucléine reste invariable *la chromatine* augmente. Or, il a écrit dans le même travail : « L'acide nucléinique est un indicateur quantitatif de la chromatine »! (64; p. 680.) Si l'acide nucléinique est un « indicateur quantitatif » de la chromatine on ne comprend pas que les variations de l'une puissent être indépendantes de celles de l'autre. Bien d'autres contradictions seraient à relever chez Godlewski et ses élèves, dont les recherches sur la segmentation des Échinides sont considérées comme fondamentales[1].

La plus grande confusion règne en réalité dans ces travaux. On y confond les volumes et les masses qu'on évalue en pesant du carton; les expressions matériel nucléaire, substance chromatoplastique, nucléine, acide nucléinique, chromatine, etc., désignent tantôt la même substance, tantôt des composés différents. Les quantités sont évaluées par des méthodes qui ne sont pas qnantitatives; enfin, on apprécie au microscope la « synthèse » de substances qui ne sont définies que par leurs affinités tinctoriales. Les constituants cellulaires qui ne prennent pas les cou-

1. La description ci-dessus ne concerne pourtant que le cas des *Échinides*. Les choses se passent tout autrement chez l'Astérie d'après Godlewski. Pourquoi donner alors à cette théorie de la migration une valeur générale?

leurs d'aniline ne sont pas autorisés à jouer un rôle dans la synthèse de l'acide nucléinique.

N'étant pas cytologistes, ce n'est pas à nous à « mettre de l'ordre dans la maison ». L'acide nucléinique, constituant spécifique des noyaux, n'a pas de couleur pour le biochimiste, mais il a une formule. Pour savoir si au cours de la segmentation il augmente du fait d'une synthèse, l'analyse chimique quantitative nous suffit.

Dans un travail déjà vieux de douze ans, E. Masing (**110**) a tenté de résoudre cette question. Sur des œufs d'*Arbacia pustulosa* mûrs et non fécondés, fécondés et segmentés ou non, il a dosé le phosphore et l'azote nucléiniques afin d'en saisir les variations quantitatives[1]. Il a rapporté ses résultats à l'azote de la poudre d'œuf desséchée. *Que les œufs soient fécondés ou non, qu'ils soient au stade 1 ou segmentés en 1000 cellules, ils contiennent toujours d'après lui la même quantité d'azote purique : soit 4 mmgr. 6 d'azote purique pour 0 gr. 1 d'azote de la poudre.*

Godlewski (**63**) et beaucoup de cytologistes après lui ont fait grand état de ces conclusions qui leur paraissaient apporter l'irréfutable démonstration de leur opinion. Elles n'ont malheureusement pas de valeur.

Si les techniques *chimiques* employées par Masing sont défendables, sa technique *biologique* contenait les plus graves causes d'erreur comme l'ont montré en 1913 T. B. Robertson et Hardolph Wasteneys (**139**). Shackell (**151**) travaillant sur le même sujet a commis les mêmes fautes que Masing mais sa technique chimique est, de plus, fort sujette à caution. Des critiques adressées à ces expérimentateurs nous ne retiendrons ici qu'une seule.

Lesœufs fécondés et non segmentés sur lesquels portaient leurs dosages retenaient un excès de spermatozoïdes agglutinés qu'il est impossible d'enlever par lavage. Neuf à douze heures après la

1. Il a employé les méthodes de Plimmer et Scott pour le phosphore nucléinique; de Burian et Hall pour l'azote purique, mais sans faire la précipitation de correction, qu'il considère comme inutile sur ce matériel de recherche (?).

fécondation on élimine au contraire facilement ces spermatozoïdes qui n'adhérent plus aux œufs segmentés. *Les œufs fécondés et segmentés contenaient donc moins de sperme de superfétation que les œufs simplement fécondés.* La richesse du spermatozoïde en acide nucléinique est telle que la présence d'un excès de ceux-ci, fixés sur les œufs, retire tout sens au dosage.

En examinant les résultats de Masing, Robertson et Wasteneys arrivent à la conclusion — en tenant compte du sens des erreurs signalées plus haut — *que les chiffres de cet auteur sont plutôt en faveur d'une synthèse d'acide nucléinique au cours de la segmentation!*

Si le travail de Masing est à reprendre, disons qu'il eut tout au moins le mérite d'aborder *directement* le problème en dosant aussi correctement qu'on le pouvait faire à cette époque les constituants eux-mêmes de l'acide nucléinique. Il ne se contenta pas comme Shackell, Robertson et Wasteneys, Fauré-Fremiet (53) d'estimations indirectes du phosphore nucléinique. Les méthodes d'évaluation par différence du phosphore nucléinique sont dangereuses dans l'œuf où il existe un grand nombre de composés phosphorés. *Que dire des recherches où l'on ne prend pas en considération la présence possible de phosphoprotéines ou vitellines deutoplasmiques*, et où par suite le *phosphore de ces composés compte comme phosphore nucléinique?*

En présence de ces contradictions et de ces critiques, nous avons considéré la question comme entière. La conception de Lœb est peut-être fausse; nous ne sommes cependant pas persuadés comme Fauré-Fremiet (53) que la théorie de ce grand biologiste ne soit faite que de trois hypothèses s'étayant l'une l'autre, et bien moins encore qu'elle soit « complètement ruinée » par les travaux de Shackell. Comme il apparaîtra dans un travail ultérieur, nous nous en sommes remis à l'expérience pour en décider.

On le voit, il n'y a rien à tirer de ces faits contradictoires pour imaginer ce que peut être dans son ensemble l'évolution du RNP chimique au cours du développement. Serions-nous en possession

de certitudes que nous hésiterions encore à conclure de l'oursin au mammifère. Pour nous représenter l'aspect du début de nos courbes de RNP, nous pouvons donc conserver l'hypothèse provisoire émise plus haut (p. 161). Les quelques expériences d'orientation que nous allons rapporter ici montrent qu'elle n'est pas absurde.

Nous avons déterminé chimiquement[1] le rapport $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$ dans les organes du maquereau (*Scomber scombrus*). Nous relevons parmi nos chiffres les valeurs suivantes, empruntée à deux expériences différentes :

	I	II
Œufs mûrs non fécondés	1,6	1,4
Spermatozoïdes mûrs	13,9	12,6
Foie (mâle adulte).	4,7	4,4

Si nous admettons que le RNP des cellules du foie — comme celui de toutes les autres cellules stables de l'organisme — a constamment diminué pendant le développpement pour se fixer chez l'adulte, il nous faut croire que la valeur ici trouvée (4,7; 4,4) est bien inférieure à celle que l'on trouvait chez l'embryon. Le rapport n'étant que de 1,6 à 1,4 dans l'œuf mûr, il avait dû augmenter beaucoup après la fécondation et la segmentation. Mais par quel mécanisme? Augmentation du numérateur par synthèse d'acide nucléinique ou diminution du dénominateur par utilisation de matériaux azotés deutoplasmiques? Peut-être par les deux mécanismes à la fois.

3° Le RNP et la physiologie de la croissance; rapprochements avec les lois de l'énergétique du développement de Rübner.

Si, comme le montrent nos courbes, les plus grandes intensités de croissance sont toujours contemporaines des valeurs les

1. Huit heures d'hydrolyse par H^2SO^4 à 40 p. 1 000; méthode cuivro argentique.

plus élevées de la relation nucléoplasmatique, cette coïncidence ne suggère-t-elle aucun rapprochement? La nouveauté des faits établis invite à la plus grande prudence; nous croyons cependant qu'il n'est pas inutile de confronter les lois de l'évolution du RNP avec les lois de l'énergétique du développement formulées par Rübner, et notamment la première. Elle est ordinairement exprimée sous une des deux formes suivantes :

« Pour faire un kilogramme de matière vivante contenant 30 grammes d'azote et représentant 1 722 calories, il faut dépenser 4 808 calories, quelle que soit l'espèce de mammifère considérée, l'homme excepté. » Ou encore :

« La quantité d'énergie — mesurée en calories — nécessaire à un jeune mammifère pour doubler son poids de naissance est la même, *que la croissance soit lente ou rapide.* »

C'est cette seconde forme d'expression que nous retiendrons. Négligeant les critiques que Friedenthal et d'autres auteurs ont adressé à cette loi de Rübner et qui, disons-le, lui retirent son caractère absolu, nous pouvons nous demander quelles causes font que la croissance, lente chez tel animal, est rapidechez tel autre. Quel est le facteur de l'accélération?

Dans une espèce, la vitesse de croissance ne se présente pas comme un caractère singulier. Elle est liée à d'autres propriétés fondamentales : durée de la vie fœtale, temps nécessaire au doublement de poids initial, durée de la croissance, longévité, etc. Le tableau ci-joint (page 169) emprunté à Rübner montre quelques-unes de ces relations.

Ne comprenant pas la raison des différences constatées d'un animal à l'autre, on se contente d'admettre qu'il s'agit de « caractères inhérents à l'espèce ». Aucune hypothèse n'a été faite pour tenter d'expliquer la vitesse tantôt grande, tantôt petite avec laquelle s'accomplit la croissance chez les divers mammifères. On peut essayer d'en formuler une.

A l'intérieur d'une même espèce, les vitesses d'accroissement les plus grandes sont toujours contemporaines des valeurs les plus élevées du rapport nucléoplasmatique.

ESPÈCE animale.	DURÉE de la vie fœtale en jours.	NOMBRE de jours nécessaires au doublement du poids de naissance.	QUANTITÉ d'azote (en gr.) fixée par jour pour 100 gr. d'azote du corps pendant cette période.
Homme	280	180	0,36
Cheval	340	60	1,1
Vache	285	47	1,4
Mouton	147-154	12 à 13	4,4
Porc	116-120	14 à 16	4,7
Cobaye	67	?	—
Chien	63	8 à 9	7,4
Chat	56	9	7,3
Lapin	28	6	11,0
Souris	21	?	—

Qu'observe-t-on en comparant les unes aux autres diverses espèces animales? Nous ne disposons malheureusement que de trois exemples : deux animaux à croissance *très rapide* : le poulet et la souris, un animal à croissance *assez lente* : le porc. Si, utilisant les mêmes coordonnées, nous dessinons les courbes de chute du RNP pour le porc et le poussin — les âges étant portés en abscisses — nous constatons, comme il a été dit, que là où la vie fœtale est courte et la cytomorphose accélérée, la chute la plus rapide de RNP est réalisée. C'est ce que montre la figure 15 (p. 170).

Mais la forme de ces courbes ne tendrait-elle pas à laisser supposer que *là où la chute du RNP est la plus rapide, il tombe de valeurs initiales plus élevées?* La hauteur du potentiel réalisé au moment de la « mise en charge » des cellules de la blastula ne déterminerait-elle pas le régime de décharge ultérieurement réalisé pendant le développement? La décharge se ferait d'autant plus vite que la valeur initiale du RNP serait plus élevée[1].

Il faudrait évidemment, pour décider de la valeur de cette hypothèse, posséder plus d'éléments de comparaison que nous

1. Les mots *potentiel*, *régime de décharge*, ne sont employés ici que pour faire image.

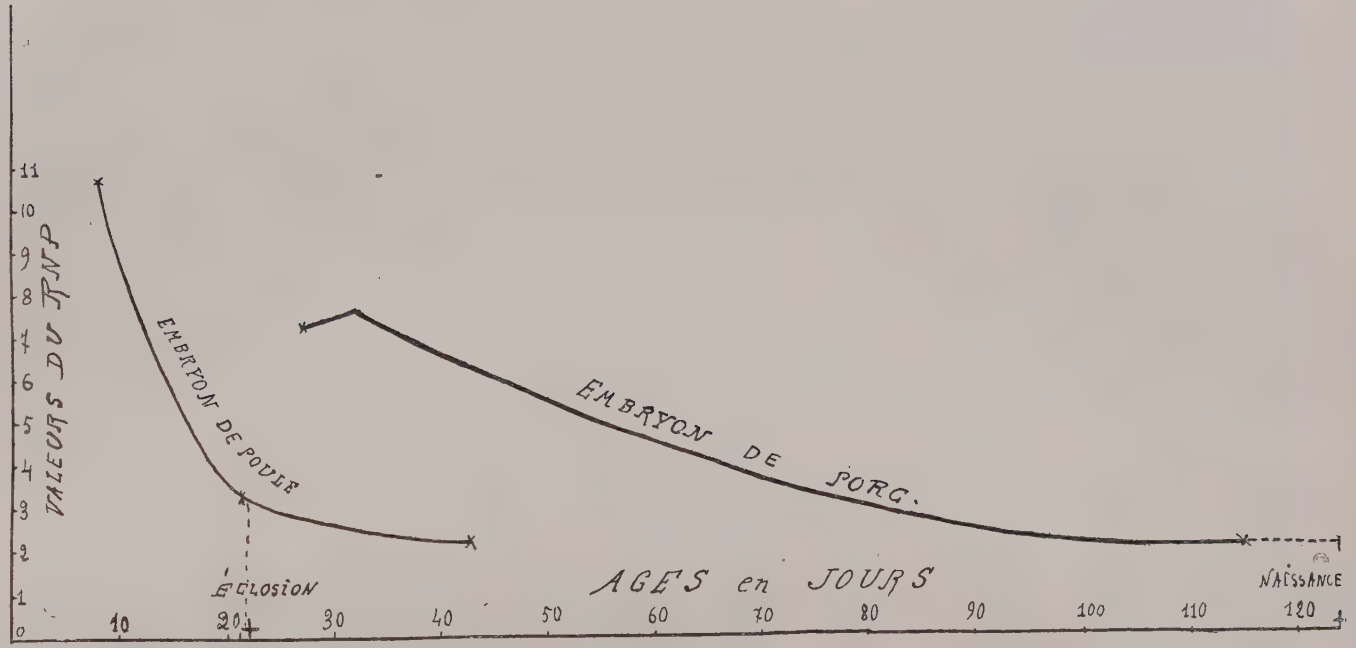


Fig. 15.

Comparaison des courbes de RNP établies en fonction du temps chez un animal à développement rapide (poulet) et lent (porc).

n'en avons. Il serait nécessaire d'avoir des courbes complètes d'évolution du RNP de l'œuf à la fin de la vie utérine; il faudrait par ailleurs construire la courbe qui concerne l'homme, animal à croissance très lente dont nous pouvons nous procurer facilement les embryons.

La colonne IV du tableau de Rübner nous permet d'affirmer

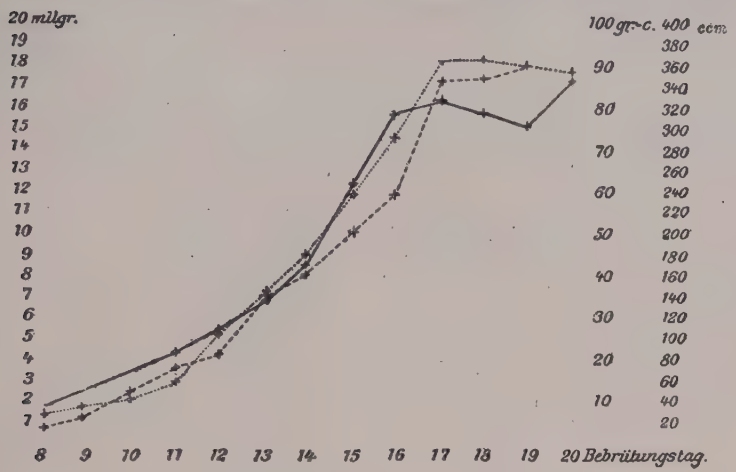


Fig. 16 (Fridericia, 58, p. 111).
En abscisses, les jours d'incubation.
En ordonnées : ———— azote purique en milligrammes;
..... CO^2 en centimètres cubes;
- - - - - - - - Chaleur en calories-grammes.
Les ordonnées sont les mêmes pour 1 milligr. d'azote purique, 5 calories-grammes à l'heure, 20 centimètres cubes de CO^2 par 24 heures.

que dans les espèces où la croissance est très rapide, les cellules vivantes sont le siège de fixations d'azote plus intenses dans l'unité de temps que chez les animaux à développement très lent. Ce qui est vrai dans la vie extra-utérine doit être vrai du développement fœtal si les rapprochements établis ont un sens. Nous n'avons pas encore de chiffres permettant de comparer *les espèces entre elles* et montrant que la cellule est le siège de mutations énergétiques d'autant plus grandes que la valeur absolue du RNP est plus élevée.

Les comparaisons que nous ne pouvons faire dès mainte-

nant d'espèce à espèce peuvent être tentées *au cours du développement d'un même animal.* La figure 16 empruntée à Fridericia (58) nous montre bien que durant la vie embryonnaire du poulet l'intensité des échanges et la production de chaleur suivent l'augmentation de masse de l'acide nucléinique. Mais cette constatation facile à prévoir ne nous intéresse pas présentement.

Utilisant des chiffres empruntés à Bohr et Hasselbalch (16-17-18) nous avons calculé pour l'embryon de poulet la production de chaleur par gramme de poids du corps et par heure (résultats en calories) pour les jours de l'incubation où les données numériques de ces auteurs le permettaient. Voici ces chiffres :

Age de l'embryon en jours.	Calories produites par gramme et par heure.
4	46,6
5	18,3
6	10,05
7	9,6
8	4,2
9	4,8
10	4,05
11	3,8

Il ne semble donc pas que Gr. Lusk soit fondé à dire que si le protoplasme des cellules embryonnaires est vraisemblablement le siège d'intenses mutations d'énergie, *rien* ne le démontre actuellement. Dans ces jeunes organismes où il n'y a pas de lutte contre la thermolyse, *les plus grandes intensités de production de chaleur sont bien réalisées au moment où les valeurs absolues du RNP sont les plus grandes.*

Peut-on nous accuser d'avoir abusé dans ce dernier paragraphe des rapprochements, des analogies, des hypothèses ? Nous ne le croyons pas. Ce reproche serait justifié s'il s'agissait ici de chapitres classiques de la physiologie où le nombre des données numériques indiscutables déjà rassemblées, les théories déjà justifiées par l'expérience rendent la spéculation inutile et dictent les recherches à poursuivre. Il n'en est pas de même ici. Nous avons donc le droit de faire des hypothèses de travail.

4° Interprétation des courbes de croissance, et de vitesse d'accroissement

On a vu dans le chapitre VI l'utilisation que nous avons faite de nos résultats pour établir diverses courbes de croissance, d'accroissement journalier et d'intensité d'accroissement. Ces courbes demandent quelques commentaires.

Nous avons dit par quels faits Jacques Lœb avait été conduit à considérer la synthèse de la chromatine comme se faisant selon le type des réactions monomoléculaires autocatalytiques.

On a pensé que ce qui était vrai de la croissance de la chromatine devait l'être du noyau, de la cellule, des tissus, de l'organisme entier des métazoaires. La croissance du corps considéré comme un tout se ferait, elle aussi, suivant l'équation de vitesse d'une réaction autocatalytique. C'est une conclusion à laquelle parvinrent simultanément W. Ostwald et T. B. Robertson (**138, 140**)[1].

L'équation de vitesse de ces réactions est la suivante :

$$\frac{dx}{dt} = \mathrm{K}x\,(\mathrm{A} - x) \quad (1)$$

où A représente la quantité de substance initiale susceptible de prendre part à la réaction, et dont la masse est limitative de la croissance :

$x =$ la quantité de substance transformée.

$A - x =$ la quantité de substance qui reste à transformer.

$K =$ constante de vitesse.

Par hypothèse, la vitesse de croissance $\frac{dx}{dt}$ est à la fois proportionnelle à x (le catalyseur) et à $A - x$.

La courbe obtenue en portant x en abscisses et les valeurs de $\frac{dx}{dt}$ en ordonnées est une courbe régulière en forme de cloche.

1. Voir aussi *American Journal of Physiol.*, 1915, xxxviii, 1, 74; et *Principles of biochemistry ;* Philadelphia, 1920.

Le sommet de cette courbe correspond au maximum de vitesse réalisé au moment où il y a autant de substance transformée qu'il en reste à transformer, c'est-à-dire quand on a :

$$x = A - x \text{ ou } x = \frac{1}{2} A$$

Quand on établit des graphiques d'accroissement tels que ceux qu'on trouve pages 142, 143, 144, on constate la présence de plusieurs cycles aussi bien pour la vie intra que pour la vie extra-utérine. Ces cycles ont été signalés par Donaldson, T. B. Robertson, Brody et Ragsdale (23), Brody (24); l'asymétrie de ces ondulations est due à des chevauchements, un nouveau cycle commençant avant que le précédent ne soit terminé. C'est d'après la considération de telles courbes que Donaldson et Robertson ont édifié leur théorie de la croissance tricyclique des mammifères. Chacun de ces cycles considéré individuellement suivrait, d'après Robertson, l'équation de vitesse d'une réaction monomoléculaire autocatalytique[1].

Mais *dans les courbes d'accroissement pondéral*, l'intérêt de ces cycles est-il considérable? C'est ce dont on peut douter. Cet intérêt se réduit à fort peu de chose si l'on admet que la croissance au sens physiologique du mot n'est caractérisée que par l'augmentation de masse active, et Robertson lui-même avait prévu la gravité de cette objection. Toute surcharge paraplasmatique brusque causant une augmentation de l'accroissement de poids produira un « cycle ». Or de telles surcharges se font en effet, soit dans les derniers temps de la vie intra-utérine, soit dans les jours qui suivent la naissance. La signification des

1. Si l'on ne se contente pas de la comparaison des courbes expérimentales et théoriques mais qu'on veuille calculer les équations de ces courbes pour voir la concordance entre les données expérimentales et théoriques, il faut intégrer l'équation (1) car les poids sont exprimés en fonction du temps (âge) tandis que la vitesse $\frac{dx}{dt}$ n'est pas exprimée en fonction du temps. Consulter sur ces points Robertson (*loc. cit*) et Brody et Ragsdale (*loc. cit.*).

cycles s'en trouve faussée. La durée nécessaire au doublement de poids initial, donnée à laquelle Rübner (141) et Glasewald (61) accordent une grande importance, perd du même coup une partie de son intérêt.

Les jeunes mammifères naissent, on le sait, dans un état de *développement physiologique* plus ou moins avancé suivant les espèces. Pembrey a montré qu'on pouvait répartir ces animaux en deux catégories : ceux qui fonctionnent de suite comme des homéothermes parfaits, ceux qui ne peuvent lutter sans le secours de la mère contre la thermolyse. C'est la présence ou l'absence d'une couche adipeuse sous-cutanée, isolante, qui paraît jouer le plus grand rôle parmi les causes déterminant le classement du jeune dans l'une ou l'autre de ces catégories. Or, les recherches de Fehling, Costantino, Thomas, Rübner, montrent que la formation du pannicule adipeux se fait suivant les espèces, soit avant, soit après la naissance, mais toujours brusquement. L'embryon humain ne contient encore que 15 p. 100 de graisse à huit mois et 35 p. 100 à terme. Homéotherme parfait, le cobaye contient 32 p. 100 de graisse à la naissance. La souris au contraire, qui ne lutte contre la déperdition calorifique que grâce au « nid » fait par la mère, ne contient à la naissance que 8 à 10 p. 100 de graisse, et 30 p. 100 six jours après. Ces exemples permettent de comprendre pourquoi la souris pourra présenter un « cycle » de croissance post-utérin, qui dans d'autres espèces se manifestera au contraire sur les courbes d'accroissement fœtal.

Les théories cycliques de la croissance basées sur l'examen des courbes d'accroissement pondéral sont d'un intérêt physiologique relatif et l'on comprend les critiques qu'en ont faites Friedenthal et Drummond.

Si l'on considère seulement la croissance d'un élément qui, comme l'acide nucléinique, n'a rien à voir avec les substances paraplasmatiques, l'assimilation avec une réaction monomoléculaire autocalytique est-elle plus justifiée? C'est une question, qui en raison des développements tant biochimiques que mathématiques qu'elle exige, nous entraînerait hors de notre sujet. Con-

tentons-nous d'attirer l'attention sur la forme de la courbe en trait plein de la figure 12 (page 153). Cette courbe indique que l'activité synthétique des cellules embryonnaires passe par un maximum au 12e jour. Bien qu'incomplète, puisqu'elle néglige les 7 premiers jours de la vie embryonnaire, elle montre que les lois auxquelles obéit la synthèse de l'acide nucléinique sont très différentes de celles qui régissent la formation de l'azote total ou du poids vif. Ces derniers, de toute évidence, représentent l'ensemble protoplasme + paraplasme. Nous ne pouvons traiter ici de l'analogie existant entre la courbe d'intensité d'accroissement de l'azote purique et celles qui traduisent les lois auxquelles sont soumises les réactions monomoléculaires autocatalytiques.

CHAPITRE VIII

APPLICATIONS DE LA DÉTERMINATION BIOCHIMIQUE DU RAPPORT NUCLÉOPLASMATIQUE CONCLUSIONS

Il nous a fallu faire un effort de synthèse, suivi d'un travail expérimental long et pénible pour dégager le sens physiologique du rapport nucléoplasmatique. La détermination *biochimique* de ce rapport pose un grand nombre de problèmes, très différents suivant les facteurs en fonction desquels on l'établit. On l'a vu, nous n'avons dans ce travail étudié que le rapport $\frac{\text{noyau}}{\text{protoplasme + paraplasme}}$ et nos recherches sont plus riches de promesses que de résultats immédiats. C'est pourquoi nous voudrions rassembler ici, avant de conclure, les hypothèses de travail les plus fécondes suggérées par la détermination chimique des deux types de RNP. Outre les applications envisagées dans le chapitre précédent, les principales questions qui nous semblent devoir bénéficier de la détermination biochimique du RNP sont de trois ordres : physiologiques, en rapport avec la mécanique du développement, médicales.

a) *Applications physiologiques.* — Le jeûne apporte à la composition qualitative et quantitative des cellules vivantes des modifications profondes. Quelles variations subit simultanément le quotient nucléoplasmatique? Que le RNP, tel que nous l'avons

déterminé, augmente dans l'inanition on doit s'y attendre. Le dénominateur diminue puisque toutes les substances paraplasmatiques sont consommées. Il est inévitable qu'il reprenne sa valeur chez l'animal remis en régime normal puisque la cellule reconstitue ses réserves. Mais il y a dans les observations de Morgulis un fait qui doit retenir l'attention. *A l'extrême limite du jeûne* les cellules du foie de la salamandre qui avaient fusionné pour former un syncytium, *reprennent la faculté de se multiplier par caryocinèse* lors du retour à l'alimentation normale. Les raisons qui permettent à des cellules du type stable (Bizzozero) de reprendre une telle activité doivent être cherchées dans les variations du rapport $\frac{\text{noyau}}{\text{protoplasme}}$. Les variations de ce seul rapport permettent d'expliquer la réapparition des divisions cellulaires, et posent, nous l'avons dit, le problème de la *réversibilité de l'équilibre* profond qui existe entre le noyau et le protoplasme.

La détermination des divers RNP chimiques nous paraît susceptible d'éclairer les recherches faites sur les arrêts de croissance et les avitaminoses. La croissance des mammifères peut être interrompue par divers procédés : carences minérales, carence d'azote aminé spécifique, avitaminoses, procédé de Schapiro, etc. Dans un grand nombre de cas, les animaux en expérience rattrapent le poids des témoins quand on les remet en régime normal. Sans qu'on puisse en donner les raisons, on constate que selon la méthode employée pour provoquer l'arrêt de croissance, la reprise du développement ne se fait pas toujours, ou se fait avec des vitesses inégales. Combien de temps peut-on interrompre la croissance sans voir disparaître la possibilité de croître? Si l'arrêt de croissance dure plus longtemps que ne durerait la croissance normale elle-même, l'organisme garde-t-il intacte la possibilité de croître? Ceci revient en somme à se demander si la sénescence et la cytomorphose qui sont inéluctables et irréversibles sont cependant *rémissibles*. La sénescence est-elle dans l'espace ou dans le temps? Y a-t-il de *vieilles cellules jeunes?* C'est là une question d'intérêt capital sur laquelle les

physiologistes sont loin d'être d'accord[1]. Nous ne voyons d'autre procédé pour l'étudier et pour classer les divers modes d'arrêt de croissance que la détermination des rapports nucléoplasmatiques chimiques.

b) *Applications à la mécanique du développement.* — Comme les questions déjà exposées dans ce travail le laissent prévoir, la détermination biochimique du RNP à l'aide de micro-méthodes doit permettre d'étudier outre les lois de l'évolution normale d'un organisme : celles qui gouvernent l'établissement de l'équilibre cellulaire chez les larves mérogoniques, la régulation chromatique des larves parthénogénétiques, enfin les métamorphoses. Nous faisons allusion notamment aux phénomènes d'accélération, de condensation, de développement, observés dans les expériences de Gudernatsch ou de ses continuateurs. Dans ces expériences, on accélère la vitesse de la cytomorphose, on provoque la formation de *jeunes cellules vieilles*, on est en présence de faits opposés à ceux constatés dans les arrêts de croissance. Ici encore nos procédés d'investigation doivent fournir de précieux enseignements.

c) *Applications médicales.* — Pour l'anatomopathologiste nous pensons que l'intérêt d'une étude chimique du quotient nucléoplasmatique est aussi évident que pour l'histologiste ou l'embryologiste. La détermination de ce rapport doit permettre l'investigation approfondie de problèmes d'un haut intérêt comme celui de l'hypertrophie rénale compensatrice. Par ailleurs, on peut envisager l'établissement de ce que nous avons appelé l'*anatomie pathologique quantitative*. Chaque fois qu'un tissu présentera des phénomènes de pycnose, de caryolyse, que dans un tissu glandulaire des éléments nobles seront remplacés progressivement par du tissu conjonctif, nos méthodes de travail permettront d'exprimer quantitativement la réduction de la masse active que la diminution d'activité physiologique ne fait que traduire.

Mais de toutes les questions de pathologie générale c'est, sans

1. Voir sur ce point Lafayette Mendel (117) qui résume les opinions de Donalson, Hans Aron, Rübner, etc.

aucun doute, celle des tumeurs qui doit tirer le plus grand bénéfice de nos recherches. H. G. Wells et Long (168) dans leurs recherches sur la teneur des tissus néoplasiques en purines ont exprimé quelques-uns de leurs résultats en pourcentage de l'azote total. D'après eux, les valeurs trouvées ne diffèrent pas sensiblement de celles des tissus sains. *A priori*, on pourrait considérer ces recherches comme démontrant l'identité de valeur dans les tissus sains et néoplasiques du RNP exprimé sous la forme $\frac{\text{azote purique}}{\text{azote total}}$. Cette constatation serait-elle exacte qu'elle n'aurait ici aucun intérêt : des réserves azotées paraplasmatiques en quantités variables figurent au dénominateur. Seule l'étude du rapport $\frac{\text{azote nucléinique}}{\text{azote protoplasmique}}$ peut nous permettre d'expliquer pourquoi les cellules des tumeurs ont repris la faculté de se diviser. Si le RNP, exprimé sous cette forme, a repris dans le tissu néoplasique considéré une valeur embryonnaire, on s'expliquerait aisément la réapparition des divisions cellulaires. L'étude biochimique de ce type de RNP doit permettre une classification des tumeurs qui ne sera pas moins féconde que celle de l'anatomopathologie. Si l'emploi de microméthodes permet de faire des dosages sur des fragments de tissu prélevés pas biopsie on pourra étudier *quantitativement l'action des radiations* sur les cellules radiosensibles en suivant les variations de leur RNP. On saisit facilement le secours précieux qu'apportera un tel procédé d'investigation. Nous reviendrons longuement ailleurs sur l'intérêt présenté par ce genre de recherches.

Il serait déplacé de s'étendre davantage ici sur les applications possibles de la détermination du RNP en fonction des masses. Les quelques hypothèses de travail énoncées ci-dessus semblent propres à justifier l'importance que nous avons attribuée au rapport nucléoplasmatique. Nous pensons avoir démontré que cette question appartient à la Physiologie générale ; elle fait éclater les délimitations arbitrairement établies entre les disciplines biologiques ; elle se pose à tous les chercheurs sous des aspects

divers mais en gardant son unité. Elle intéresse aussi bien le cytologiste et l'embryologiste que le physiologiste et le médecin.

En dépit des insuffisances de la technique, nous nous sommes audacieusement attaqué à ce problème. Seules nos recherches ultérieures permettront de voir si cette tentative était prématurée.

***

CONCLUSIONS

1° Dans ce travail nous avons posé le problème de la *masse protoplasmique active*, tel que nous le concevons, en nous servant de faits empruntés à la Bioénergétique. Nous avons montré les difficultés auxquelles se heurtent les différentes méthodes d'évaluation de cette masse. Avant d'adopter certaines d'entre elles, l'étude préalable du *rapport nucléoplasmatique* s'est imposée à nous comme indispensable.

2° Nous avons exposé : l'histoire de la relation nucléoplasmatique des morphologistes établie en fonction des volumes, l'intérêt qu'elle présente, les applications multiples auxquelles sa détermination a donné lieu. Nous avons critiqué la forme de ce rapport et les procédés techniques employés pour l'établir.

3° Transportant cette notion dans le domaine de la Physiologie générale, on peut exprimer l'équilibre noyau protoplasme non plus en fonction des volumes, mais des masses. Le rapport nucléoplasmatique prend un sens précis mais différent suivant qu'on l'exprime sous une des deux formes : $\frac{\text{masse du noyau}}{\text{masse du protoplasme}}$ ou $\frac{\text{masse du noyau}}{\text{masse du protoplasme} + \text{masse du paraplasme}}$.

Dans ce travail, nous nous sommes limités à l'étude de ce dernier rapport.

4° Une discussion du choix des éléments propres à représenter le noyau et le cytoplasme entier nous a conduits à

adopter l'azote des aminopurines comme représentatif de l'acide nucléinique du noyau, et l'azote total comme dénominateur. Plus exactement notre rapport a la forme $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$.

5° Nous avons dû discuter les procédés de dosage des aminopurines dans les tissus et leur séparation d'avec les oxypurines, notamment l'acide urique. La critique des travaux antérieurs et de nombreux essais personnels, nous ont montré que la méthode de Krüger et Schittenhelm était applicable aux tissus embryonnaires, nous l'avons adoptée.

6° L'étude des variations du rapport $\frac{NP \times 100}{NT - NP}$ au cours du développement embryonnaire (poulet, porc, souris) nous a permis d'établir la loi suivante : *Au cours du développement embryonnaire le rapport existant entre la masse du noyau et la masse du cytoplasme décroît sans cesse suivant une courbe régulière. Les valeurs obtenues pour l'embryon entier ne font que traduire globalement ce qui se passe dans chaque tissu en particulier : ce sont des valeurs moyennes.*

7° *Les courbes de chute du RNP établies en fonction du temps pour les différents animaux montrent que cette chute se fait d'autant plus vite que la vie embryonnaire est plus courte et le développement plus condensé. La valeur maximale à partir de laquelle se fait la chute varie avec l'espèce considérée.*

8° *Les lois de variation du RNP au cours du développement apparaissent comme l'expression quantitative des lois de la cytomorphose de Ch. S. Minot.* Ces premières lois ne se superposent pas simplement aux secondes; elles ont un sens physiologique et ouvrent de nouvelles voies expérimentales.

9° La synthèse de l'acide nucléinique, chez l'embryon de poule, se fait suivant des lois différentes de celles qui président à la formation de l'azote total ou à l'augmentation de poids vif. La cause en peut être cherchée dans le fait que, contrairement au poids ou à l'azote total, l'acide nucléinique serait un élément représentatif de la masse active. Seule l'étude, au cours de l'évo-

lution complète d'un individu, des deux types de rapport nucléoplasmatique définis par nous, permettra de l'affirmer.

10° Nous avons exposé quelques-unes des hypothèses de travail que suggère la détermination maintenant possible des différents types de relation nucléoplasmatique établie en fonction des masses.

Vu : *le Président de la thèse*,
MAURICE NICLOUX.

Vu : *le Doyen*,
G. WEISS.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Strasbourg,
S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE

1. Abderhalden ; Ewald ; Fodor ; Röse (1915). — Versuche über den Bedarf an Eiweiss unter verschiedenen Bedingungen. *Pflüger's Archiv*, t. CLX, p. 511.
2. Abderhalden (E.) (1914). — Lehrbuch der physiologischen Chemie. 3e édition (Berlin-Vienne).
3. Afanassiew (1883). — Ueber anatomische Veränderungen der Leber während verschiedener Tätigkeitszustande. *Pflüger's Archiv*, t. XXX, p. 385.
4. Arnstein (Robert) (1897). — Ueber die Bestimmung der Xanthinbasen im Harn. *Zeitschr. für physiol. Chem.*, t. XXIII, p. 417.
5. Aron (Hans) (1910). — Wachstum und Ernährung. *Biochem. Zeitschr.*, t. XXX, p. 207.
6. Aron (Hans) (1913). — Biochemie des Wachstums des Menschen und der höheren Tiere, in Oppenheimer. *Handbuch der Biochemie* (Ergänzungsband).
7. Bayliss (W. M.) (1915). — Principles of general Physiology. 1re édition (Longmanns, édit., Londres).
8. Bendix (E.) et Ebstein (E.) (1903). — Ueber den Pentosengehalt Tierischer und Menschlicher Organe. *Zeit. für allgem. Physiol.*, t. II, p. 1-14.
9. Benedict (Fr. G.) (1915). — Factors affecting basal metabolism. *Journal of biological Chemistry*, t. XX, p. 263-299.

9 *bis.* Benedict et Talbot (1911). — Metabolism and growth from birth to puberty. *Carnegie Institution's publications*, no 302.

10. Berezowski (A.) (1910). — Studien über die Zellgrösse (1er Mitt.) Ueber das Verhältniss zwischen der Zellgrösse und der gesammtgrösse des wachsenden Organismus. *Archiv für Zellforschung*, t. V.
11. Bergmann (1848). — Ueber die Verhältnisse der Wärmeökonomie der Tiere zu ihrer Grösse (Göttingen, Vandenhoek et Ruprecht, édit.).

11 *bis.* De Betlingk (R. R.) (1896). — Contribution à l'étude des modifications de la constitution chimique de l'organisme pendant

l'inanition (en russe). *Archives des Sciences Biologiques de Saint-Pétersbourg*, t. V, p. 387-488.

12. Bialazewicz (K.) (1912). — Ueber das Verhalten des Osmotischen Druckes während der Entwicklung der Wirbeltiereembryonen. I-II Versuche im Hühner und Froschembryonen. *Archiv für Entwickl. Mechan.*, t. XXXIV.
13. Bizzozero et Vassale (1887). — Sulla produzione e sulla rigenerazione fisiologica degli elementi ghiandolari. *Archivio per le Scienze Medice*, t. XI, p. 195-254.
14. Bizzozero (1894). — Accrescimento e Rigenerazione nell' organismo. *Archivio per le Scienze Medice*, vol. XVIII, p. 245-287.
15. Böhm (Paul) (1908). — Ueber den feineren Bau der Leberzellen bei verschiedenen Ernährungs Zustand; zugleich ein Beitrag zur Physiologie der Leber. *Zeitschr. für Biol.*, t. LI, p. 409-434.
16. Bohr et Hasselbalch (1900). — Ueber die Kohlensäure Produktion des Hühnerembryos. *Skandin Archiv. für Physiol.*, t. X, p. 149.
17. Bohr et Hasselbalch (1900). — Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos. *Skandin. Archiv. für Physiol.*, t. X, p. 353.
18. Bohr et Hasselbalch (1903). — Ueber die Wärmeproduktion und den Stoffwechsel des Embryos. *Skandin. Archiv für Physiol.*, t. XIV, p. 398.
19. Bottazzi (1911). — Winterstein Handbuch der Vergleich. Physiol. Das Cytoplasma und die Körpersäfte, t. I, 1re partie (Iéna, Fischer).
20. Boveri (Theodor) (1905). — Zellenstudien. Heft 5 : Ueber die Abhängigkeit der Kerngrösse und Zellenzahl der Seeigellarven, von der Chromosomenzahl der Ausgangszellen (Iéna, Fischer).
21. Brachet (A.) (1917). — L'œuf et les facteurs de l'Ontogenèse (O. Doin, Paris).
22. Brachet (A.) (1921). — Traité d'Embryologie des Vertébrés (Masson, Paris).
23. Brody (Samuel) et Ragsdale (Arthur) (1921). — The rate of growth of the dairy cow ; extrauterine growth in weight. *Journal of general Physiology*, vol. III, n° 5, p. 623-633.
24. Brody (Samuel) (1921). — The rate of growth of the domestic fowl. *Journal of general Physiology*, vol. III, p. 765-770.
25. Brugsch et Schittenhelm (1907). — Zur Stoffwechselpathologie der Gicht. *Zeit. für Experimentelle Pathol.*, t. IV, p. 532.
26. Bruhns (G.) (1890). — Ueber Adenin und Hypoxanthin. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XIV, p. 533.
27. Buglia (G.) (1908). — Sullo scambio gassoso delle uova di Aplysia limacina nei vari periodi di sviluppo. *Archivio di Fisiologia*, vol. V, p. 455.

28. Burian et Schur (1897). — Ueber Nükleinbildung im Säugetier Organismus. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XXIII, p. 55.
29. Burian et Schur (1900). — Ueber die Stellung der Purinkörper im menschlichen Stoffwechsel. *Pflüger's Arch.*, t. LXXX, p. 241-343.
30. Burian et Schur (1903). — Das quantitative Verhalten der menschlichen Harnpurinausscheidung. *Pflüger's Arch.*, t. XCIV, p. 273-336.
31. Burian et Walker Hall (1903). — Die Bestimmung der Purinstoffe im tierischen Organen mittels der Methode des Korrigierten Wertes. *Zeit. für Physiol. Chem.*, t. XXXVIII, p. 336.
32. Burian (1904-1906). — Chemie der Spermatozoen. *Ergebnisse der Physiologie*, t. III, p. 184 ; t. V, p. 768.
33. Burns (D.) (1916). — On the precursor of creatin in chickmuscle. *Biochemical Journal*, vol. X, n° 2.
34. Bury (Janina) (1913). — Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung der Temperatur 0° C auf die Entwicklung der Echinideneier. *Archiv für Entwicklungs Mechanik*, t. XXXVI, p. 537.
35. Busacca (Archimede) (1916). — Studi sulla curva di accrescimento delle cellule nervose dei gangli spinali nei mammiferi. Archivio italiano di Anatomia. Vol. XV, fasc. 2, p. 265-281.
36. Busacca (1920). — Studi sulla curva di accrescimento della cellula gangliare dell' uomo. *Giorn. della R. Accad. di Med. di Torino*, vol. XXXIII, p. 101-109.
37. Cathcart (Gertrude Dorman) (1916). — Nitrogen distribution in the tissues and some other factors which influence it. *Biochemical Journal*, t. X, p. 197.
38. Closson (Olmer) (1906). — The elimination of creatinin. *American Journal of Physiol.*, vol. XVI, 1906, p. 252-267.
39. Conklin (E. G.) (1912). — Body size and cell size. *Journal of Morphology*, t. XXIII, p. 159-188.
40. Conklin (E. G.) (1912). — Cell size and nuclear size. *Journal of experim. Zoology*, vol. XII, p. 1-98.
41. Cramer (W.) (1915-16). — On the biochemical mechanism of growth. *Journal of Physiol.*, t. 50, p. 322.
42. Driesch (Hans) (1898). — Von der Beendigung morphogener Elementar prozesse. *Archiv für Entwickl. Mechan.*, t. VI, p. 198.
43. Driesch (Hans) (1900). — Die isolierten Blastomeren des Echiniden Keimes. *Archiv für Entwickl. Mechan.*, t. X, p. 361.
44. Driesch (1905). — Ueber das Mesenchym. von unharmonische zusammengesetzten Keimen der Echiniden. *Archiv für Entwickl. Mechan*, t. XIX.
45. Driesch (Hans) (1906). — Die Physiologie der Tierischen Form. *Ergebnisse der Physiologie*, t. VI, p. 1-102.

46. Drummond (J. C.). — A study of the distribution of nitrogen in the proteins of tumours and normal tissues. *Biochemical Journal*, vol. X, n° 3, p. 473.
47. Enriques (Paolo) (1912). — La teoria cellulare (Bologne, Zanichelli édit.).
48. Enriques (Paolo) (1914). — La formazione di Sostanza nucleare nello sviluppo. Studio biometrico sull' *Aplysia limacina*. *Bios*, vol. II, fasc. 2 (1914), p. 185-193 (éditeur Formiggini, Genova).
49. Enriques (Paolo). — Wachstum und seine analytische Darstellung. *Biologisches Centralbl.*, t. XIX, p. 331-352.
50. Erdmann (Rh.). — Experimentelle Untersuchungen der Massenverhältnisse von Plasma, Kern, und Chromosomen in dem sich entwickelnden Seeigeleies. *Arch. für Zellforsch.*, t. II, p. 89.
51. Erdmann (Rh.) (1908). — Kern und Plasmawachstum in ihren Beziehungen in einander. *Ergebnisse der Anatomie und Entwickl. Geschich.*, t. XVIII.
52. Erdmann (Rhoda) (1911). — Quantitative Analyse der Zellbestandteile bei normalen experimentell veränderten und pathologischen Wachstum. *Ergebnisse der Anatomie und Embryologie*, t. XX, 11ª partie, p. 471-566.
53. Fauré-Frémiet (1913). — Le cycle germinatif chez l'Ascaris megalocephala. *Archives d'anatomie microscopique*, t. XV, fasc. 4, p. 435-757.
54. Feulgen (R.) (1914). — Ueber die Kohlenhydratgruppe in der echten Nukleinsäure. *I. Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XCII, p. 154-158.
55. Feulgen (1917). — Ueber die Kohlenhydratgruppe in der echten Nukleinsäure. *II. Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. C.
56. Feulgen (1918). — I. Ueber den Bau der echten Nucleinsäure. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, vol. CI, p. 289. — II. Bestimmung der Purinbasen in Nucleinsäure nach Huminfreier Spaltung. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. CII, p. 245.
57. Folin (Otto) (1915). — Laws governing the chemical composition of urine. *Amer. Journal of Physiol.*, t. XIII, p. 66-115.
58. Fridericia (L. S.) (1912). — Untersuchungen über die Harnsäureproduktion und die Nucleoproteidneubildung beim Hühnerembryo. *Skandin. Archiv. für Physiol.*, t. XXVI, p. 1-129.
59. Friedenthal (H.) (1914). — Allgemeine und spezielle Physiologie des Menschenwachstums (Springer, Berlin, 1914).
60. Gerassimow (J. J.) (1902). — Die Abhängigkeit der Grösse der Zelle von der Menge ihrer Kernmasse. *Zeitschr. für allgem. Physiol.*, t. I, p. 220-258.
61. Glasewald (H. W.) (1909). — Die Zeiten der Verdoppelung des Körpergewicht neugeborener Tiere (Berlin, Shade Otto Franke, édit.).

62. Godlewski junior (Emil) (1908). — Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch aussere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. *Archiv für Entwicklungs Mechanik*, t. XXVI, p. 278-328.
63. Godlewski (Emil). — Physiologie der Zeugung. *Winterstein Handbuch der Vergleich. Physiologie*, t. III, seconde partie.
64. Godlewski (Emil) (1921). — Le problème du rapport entre le plasma et le noyau au cours du développement embryonnaire. *Revue générale des Sciences* (Doin, Paris), 32e année, no 22, p. 676.
65. Grund (G.) (1902). — Ueber den Gehalt des Organismus an gebundenen Pentosen. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XXXV, p. 111-133.
66. Guye (Ch.-E.) (1922). — L'évolution physico-chimique (Paris, Chiron, éditeur).
67. Hardesty (1902). — Observations on the medulla spinalis of the elephant. *Journal of Comp. Neurology*, vol. XII.
68. Hasselbalch (K.-A.) (1900). — Ueber den respiratorischen Stoffwechsel des Hühnerembryos. *Skandin. Arch. für Physiol.*, t. X, 1900, p. 353-402.
69. Hatai Shinkishi (1902). — Number and size of the spinal ganglion cells and dorsal root in the white rat at different ages. *Journal of Comp. Neurol.*, vol. XII.
70. Hertwig (Richard) (1903). — Ueber Korrelation von Zell und Kerngrösse und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. *Biologisches Centralblatt*, t. XXIII, p. 49-62 et 108-119.
71. Hertwig (R.) (1908). — Ueber neue Probleme der Zellenlehre. *Arch. für Zellforschung*, t. I.
72. Hertwig (Oscar et Gunther). — Allgemeine Biologie. 5e édition (Iéna, Fischer, 1920).
73. His et Hagen (1900). — Kritische Untersuchungen über den Nachweis von Harnsäure und Purinbasen im Blut und in tierischen Organen. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XXX, p. 384.
74. Hopkins (F. G.) (1913). — The dynamic side of biochemistry. *Nature*, 16 octobre 1913. Vol. XCII, p. 213-225.
75. Hösslin (von) (1888). — Ueber die Ursache der scheinbaren Abhängigkeit des Umsatzes von der Grösse der Körperoberflöche. *Arch. für Anat. und Physiol.* (Physiol. Abt., 1888).
76. Huppert (1896). — Ueber die Bestimmung der Xanthinbasen im Harn nach Krüger und Wulff. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XXII, p. 556.
77. Illing (G.) (1905). — Vergleichende histologische Untersuchungen ueber die Leber der Haussaugetiere. Ueber die Grösse und Form der Leberläppchen und der Leberzellen bei jüngeren und älteren Tieren. *Anatomischer Anzeiger*, t. XXVI, p. 177-193.

78. Inaba (Riotaro) (1911). — Ueber Zusammensetzung der Tierkörpers. *Arch. für Physiol. und Anatomie*, 1911, p. 1 à 8.
79. Janney (N. W.). — Protein Content of Muscle. *Journal of Biol. Chem.*, t. XXV, p. 187.
80. Jones (W.) et Austrian (C. R.). — On the nuclein ferments of embryo. *Journal of Biol. Chem.*, vol. III, p. 227.
81. Jones (Walter) (1920). — Nucleic Acids. Their chemical properties and physiological conduct. *Monographs on Biochemistry*, second edition (Longmanns, London, 1920).
82. Kanitz (1907). — Sollte der zweite Hauptsatz der Energetik für Lebewesen nicht immer gelten? *Centralblatt für Physiol.*, t. XX, p. 837.
83. Kanitz (1907). — Die allgultigkeit der zweiten Hauptsatz. *Centralblatt für Physiol.*, t. XXI, p. 179.
84. Kanitz (A.) (1910). — Das Protoplasma als chemisches System. *Handbuch der Biochemie* (Oppenheimer), t. II, fascicule 2, p. 213-258.
85. Keibel (E.) (1897). — Normentafeln zur Entwicklunggeschichte der Wirbeltiere. I. Normentafel zur Entwicklungsgeschichte des Schweines (*Sus scrofa domesticus*) (Iéna, Fischer, éditeur).
86. Koehler (Otto). — Ueber die Abhängigkeit der Kernplasmarelation von der Temperatur und vom Reifezustand der Eier. Experimentelle Untersuchungen an *Strongylocentrotus lividus*. *Arch. für Zellforschung*, t. VIII, p. 272.
87. Kossa (Julius) (1906). — Die Quantitative Bestimmung der Harnsäure im Vogelharn. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XLVII, p. 1.
88. Kossel (1886). — Weitere Beiträge zur Chemie des Zellkerns. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. X, p. 248.
89. Kossel (A.) (1888). — Ueber das Adenin. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XII, p. 241.
90. Kossel (A.) (1911). — Ueber die Chemische Beschaffenheit des Zellkerns (Nobelvortrag). *Münchener medizinische Wochenschrift*, n° 2, 1911.
91. Krüger (M.) (1894). — Ueber die Fällbarkeit der Harnsäure und der Basen der Harnsäuregruppe als Kupferoxydulverbindungen. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XVIII, p. 351.
92. Krüger (Martin) (1895). — Das Verhalten von Harnsäure Adenin und Hypoxanthin zu SO^4Cu und Natriumsulfit resp. Natriumthiosulfat. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XX, p. 170.
93. Krüger et Wulff (C.) (1895). — Ueber eine Methode zur Quantitativen Bestimmung der sog. Xanthinkörper im Harne. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XX, p. 170.
94. Krüger (1896). — Eine neue Methode zur Bestimmung der Harnsäure im Harn. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XXI, p. 311.

95. Krüger et Salomon (1898). — Die alloxurbasen des Harns. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, I. t. XXIV, p. 364 ; II. t. XXVI, p. 350.
96. Krüger et Schittenhelm (1902). — Die Purinkörper der menschlichen Fäces. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, vol. XXXV, p. 153.
97. Krüger (M.) et Schmid (1905). — Zur Bestimmung der Harnsäure und Purinbasen im menschlichen Harne. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XLV, p. 1.
98. Krüger (M.) et Schittenhelm (1905). — Die Menge und Herkunft der Purinkörper in den menschlichen Fäces. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XLV, p. 14.
99. Levene (1922). — Preparation and analysis of animal nucleic acid. *Journal of Biol. Chem.*, vol. LIII, p. 441-447.
100. Levi (G.) (1918). — I gangli cerebrospinali. Studì di istologia comparata e di istogenesi. Suppl. *Archivio italiano di Anatom. e di Embriol.*, vol. VII, p. 394.
101. Levi (Giuseppe) (1914). — Studì sulla grandezza delle cellule. III. Le modificazioni della grandezza cellulare e nucleare e dell' indice plasmatico nucleare durante i piu precoci periodi dell' ontogenesi dei Mammiferi. *Ricerche di Biologia* dedicate al Prof[r] Alessandro Lustig nel 25° anno del suo insegnamento universitario.
102. Levi (Giuseppe) (1916). — I fattori che determinano il volume degli elementi nervosi. *Rivista di Patologia nervosa e mentale*, anno 21, fasc. 12.
103. Levi (Giuseppe) (1919). — Il fondamento morfologico dell' accrescimento organico. *Archivio di Scienze biologiche*, vol. I, n° 1, décembre 1919.
104. Loeb (G.) (1908). — La Dynamique des Phénomènes de la Vie. Traduction *Daudin-Schaeffer* (Alcan, éditeur).
105. Loeb (Jacques) (1910). — Ueber den Autokatalytischen Charakter der Kernsynthese bei der Entwicklung. *Biologisches Centralblatt*, t. XXX, p. 347.
106. Luthje (H.) (1902). — Beiträge zur Kentniss des Eiweissstoffwechsels. *Zeitschr. für Klin. Med.*, t. XLIV, p. 22-70.
107. Luthje (H.) et Berger (1904). — In welcher Form kommt aus der Nahrung retinierter Stickstoff in Organismus zur Verwendung. *Deutsches Arch. für Klinische Med.*, t. LXXXI, p. 278.
108. Marcus. — Ueber die Wirkung der Temperatur auf die Furchung bei Seeigeleiern. *Arch. für Entw. Mechanik*, t. XXII, p. 445.
109. Marés (F.) (1910). — Die physiologische Protoplasma Stoffwechsel und die Purinbildung. *Pflüger's Arch.*, t. CXXXIV, p. 59-102.
110. Masing (Ernst) (1910). — Ueber das Verhalten der Nukleinsaüre bei der Furchung des Seeigeleies. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. LXVII, p. 161-173.

111. Masing (Ernst) (1911). — Ueber eine Beziehung zwischen Kernstoffgehalt und Entwicklung. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. LXXV, p. 135.

112. Masing (E.) (1911). — Chemische Beiträge zur Blutregeneration. *Arch. für experim. Pathol. und Pharmakol.*, t. LXVI, p. 71.

112 *bis.* Mayer (A.) et Schaeffer (G.) (1913). — Recherches sur la teneur des tissus en lipoïdes. Teneur des tissus en phosphore lié aux lipoïdes. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XV, p. 773-788. — Recherches sur les variations des équilibres cellulaires : variations de la teneur des tissus en lipoïdes et en eau au cours de l'inanition absolue. *Journal de Physiol. et Pathol. générale*, t. XVI, p. 203-211.

113. Mellanby (1908). — Creatin and creatinin. *Journal of Physiol.*, t. XXXVI, 1908, p. 447-487.

114. Mendel (Lafayette) et Levene (1905-1906). — On the pyrimidin bases of the nucleic acid obtained from fish eggs. *Journal of Biological Chemistry*, t. I, p. 426.

115. Mendel (La F.) et Leavenworth (1908). — Chemical studies on growth. IX. Notes on the composition of embryonic, muscular and nervous tissues. *The Amer. Journal of Physiol.*, t. XXI, p. 99, 1908.

116. Mendel (Lafayette) et Leavenworth (1908). — Changes in the Purine, Pentose, and Cholesterol content of the developping Egg. *The American Journal of Physiol.*, 1908, t. XXI, p. 77.

117. Mendel (Lafayette) (1916). — Das Wachstum. *Ergebnisse der Physiologie*, t. XV, p. 102–162.

118. Minot (Charles) (1908). — The Problem of age. *Growth and Death* (London, 1908).

119. Morgulis (S.) (1911). — Studies of inanition in its bearing upon the Problem of growth. *Arch. Entwick. Mech.*, t. XXXII.

120. Morgulis (S.) (1912). — Studien über Inanition in ihrer Bedeutung für das Wachstumsproblem. II Experimente an *Triton cristatus*. *Arch. für Entwicklungs Mechanik*, t. XXXII.

121. Morpurgo et Tirelli (1892). — Sullo sviluppo dei gangli intervertebrali del coniglio. *Annali di Fren. et scienze aff.* (Torino, 1892).

122. Moszeik (Otto) (1888). — Mikroskopische Untersuchungen über den Glykogen Ansatz in der Froschleber. *Pflüger's Arch. für die gesam. Physiol.*, t. XLII, p. 556-581.

123. Moulton (C. R.) (1916). — Units of reference for basal metabolism and their interrelations. *Journal of Biolog. Chem.*, vol. XXIV, p. 299-320.

124. Moulton (1920). — Changes in flesh due to underfeeding. *Journal of Biol. Chem.*, t. XLIII, p. 67.

124 *bis.* Mühlmann (M.) (1913). — Lipoïdes Nervenzellpigment und die Altersfrage. *Virchow's Archiv*, t. 212, p. 235.

125. Myers (V. C.) and Fine (Morris) (1913). — The creatine content of muscle under normal conditions. Its relation to the urinary creatinine. *Journal of Biolog. Chem.*, vol. XIV, p. 9.

126. Myers (V. C.), Fine (Morris). — The metabolism of creatine and creatinine. *Journal of Biolog. Chemistry*, t. XXI, p. 389.

127. Nemec (1910). — Das Problem der Befruchtungsvorgänge (Berlin, Borntraeger, éditeurs).

128. Noë (1900). — La Réparation compensatrice après le jeûne. *C. R. Soc. Biolog.*, t. LII, p. 755-757.

129. Osborne et Mendel (1914). — The suppression of growth and the capacity to grow. *Journal of Biolog. Chem.*, t. XVIII, p. 95.

130. Osborne et Mendel (L.) (1915). — The resumption of growth after long continued failure to growth. *Journal of Biolog. Chem.*, t. XXIII, 1915, p. 439-453.

131. Osborne (T. B.) et Mendel (Lafayette) (1916). — Acceleration of growth after retardation. *American Journal of Physiol.*, t. XL, p. 16.

132. Paladino (1914). — Les Cellules nerveuses sont-elles des éléments perpétuels de l'organisme et le pouvoir germinatif de l'épendyme est-il limité à la période embryonnaire ? *Arch. italiennes de Biologie*, t. LXI, p. 443-450.

132 *bis*. Palmer (W.), Means (J. H.) et Gamble (J. L.) (1914). — Basal metabolism and creatinine elimination. *Journal of Biolog. Chem.*, t. XIX, p. 239-244.

133. Petren (K.) (1898). — Ueber das Vorkommen, die Menge und die Abstammung der Xanthinbasen in den Fäces. *Skandin. Archiv. für Physiologie*, t. VIII, p. 315.

134. Pfaundler (M.) (1921). — Ueber die energetische Flächenregel. *Pflüger's Archiv für die gesammte Physiologie*, t. CLXXXVIII, p. 273-280.

135. Plenk (H.) (1911). — Ueber Aenderungen der Zellgrösse in Zusammenhang dem Körperwachstum der Tiere. *Arb. aus der Zool. Inst.*, t. XIX, 1911.

136. Rautmann (H.) (1909). — Der Einfluss der Temperatur auf das Grössenverhältniss des Protoplasma-Körpers zum Kern. *Arch. für Zellforschung*, t. III, p. 44-80.

137. Riesser (Otto) (1922). — Beiträge zur Physiologie des Kreatins. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. CXX, p. 189.

138. Robertson (Brailsford) (1908). — I. On the normal rate of growth of an individual and its biochemical significance. *Arch. für Entwicklungs Mechan.*, Band XXV, p. 581-614. — II. Further remarks on..., *Idem*, Band XXVI, p. 108-118.

139. Robertson (T. B.) et Hardolph Wasteneys (1913). — On the changes in lecithin content which accompany the development

of Sea-urchin eggs. *Arch. für Entwicklungs Mechanik*, t. XXXVII, p. 485-496.

140. Robertson (Brailsford) (1913). — On the nature of the autocatalyst of growth. *Arch. für Entwicklungs Mechanik*, t. XXXVII, p. 497.
141. Rübner (1908). — Das Problem der Lebensdauer und seine Beziehungen zu Wachstum und Ernährung (Oldenbourg, éditeur).
142. Rübner (Max) (1909). — Kraft und Stoff im Haushalte der Natur (Leipzig).
143. Rübner (Max) (1911). — Ueber den Eiweissansatz. *Arch. für Physiol. und Anat. Physiol.* Jahrgang 1911, p. 67-84.
144. Rübner (Max) (1911). — Beitrag zur Lehre von Eiweissstoffwechsel. *Arch. für Physiol.*, Jahrgang 1919, p. 36.
145. Salkowski (1922). — Zur Bestimmung der Purinbasen im Harne. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. CXIX, p. 121-124.
146. Scaffidi (V.) (1910). — Untersuchungen über den Purinstoffwechsel. II^m über den Gesamtstickstoff und den Purinstickstoff in den Organen von Scyllium catalus. *Biochem. Zeitschr.*, t. XXV, p. 296.
147. Scaffidi (V.) (1911). — Untersuchungen über Purinstoffwechsel VIII. Ueber den Gehalt an Purinbasen der verschiedenen Arten von Muskelgewebe. *Biochem. Zeitschr.*, t. XXXIII, p. 247-251.
148. Schapiro (1905). — On the influence of chloroform on the growth of young animals. *Journal of Physiol.*, t. XXXIII ; *Proceed. of the Physiol. Society*, p. 31.
149. Schindler (S.) (1899). — Beiträge zur Kentniss des Adenin, Guanin und ihrer Derivate. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. XIII, p. 432.
150. Seeland (1887). — Ueber die Nachwirkung der Nahrungsentziehung. *Biolog. Centralblatt*, t. VII, p. 888.
151. Shackell (1911). — Phosphorus Metabolism during early cleavage of the Echinoderm egg. *Science*, t. XXXIV, 2^e partie, p. 573-576.
152. Shaffer (Philip) (1908). — The excretion of creatinin and creatin in health and disease. *American Journal of Physiol.*, t. XXXIII, p. 1-22.
153. Sieber (N.) et Dzierzgowski (W.) (1909). — Die Purine der Lunge. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. LXII, p. 259.
154. Siven (V. O.) (1901). — Zur Kenntniss der Harnsäurebildung im menschlichen Organismus unter physiologischen Verhältnissen. *Skandin. Arch. für Physiol.*, t. XI, p. 123-150.
155. Siven (V. O.) (1906). — Beitrag zur Frage nach dem endogenen Purinstoffwechsel beim Menschen. *Skandin. Arch. für Physiol.*, t. XVIII, p. 177.

156. Sommer et Wetzel (1904).—Die Entwicklung des Ovarialeies und des Embryos chemisch untersucht mit Berücksichtigung der gleichzeitigen morphologischen Veränderungen. *Archiv für Physiologie* (Engelmann), Jahrgang 1904, p. 389-409.

157. Steinitz (1904). — Ueber den Einfluss Ernährungsstörungen auf die chemische Zusammensetzung des Säuglingskörpers. *Jahrbuch für Kinderheilkunde*, t. LIX, p. 447-461.

158. Steudel et Sung-Sheng-chou (1921). — Ueber die Bestimmung der Purinbasen im Harne. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. 116, p. 223.

159. Strasbürger (1893). — Ueber die Wirkungsphaere der Kerne und die Zellgrösse. *Histologische Beiträge*, Heft 5, p. 97.

160. Tangl (F.) et Mituch (A.). — 5. Energetik der Ontogenese, Weitere Untersuchungen über die Entwicklungsarbeit und den Stoffumsatz im bebrütenen Hühnerei. *Pflüger's Arch.*, t. CXXI, p. 437.

161. Termi (Tullio) (1919). — 1° Sulla correlazione fra ampiezza del territorio di innervazione e grandezza delle cellule gangliari. 2° Ricerche sui gangli spinali che innervano la coda rigenerata nei sauri. *Archivo Italiano di Anatomia e di Embryologia*, t. XVIII, p. 4.

162. Thannhauser und Czoniczer (1920). — Experimentelle Studien über den Nucleinstoffwechsel. IX Mitteilung : Ueber den Nachweiss und die Bestimmung von gebundenen und freien Purinen in menschlichen Blut. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. CX, p. 307.

163. Thomas (K.) (1911). — Ueber die Zusammensetzung von Hund und Katze während der ersten Verdoppelungsperioden des Geburtsgewichtes. *Arch. für (Anat. und) Physiol.*, Jahrgang 1911, p. 9-38.

164. Tichomiroff (1885). — Chemische Studien über die Entwicklung der Insekteneiern. *Zeitschr. für Physiol. Chem.*, t. IX, p. 518.

165. Voit (Erwin) (1905). — Welchen Schwankungen unterliegt das Verhältniss der Organgewichte zum Gesamtgewichte des Tieres. *Zeitschr. für Biologie*, t. XL, p. 153-166.

165 *bis.* Voit (Erwin) (1906). — Ueber die Eiweisszersetzung während des Hungerns, p. 570-571.

166. Wallengren (1902). — Inanitionserscheinungen der Zellen. *Zeitschr. für allgem. Physiol.*, t. I, p. 67-129.

167. Wells (H.), Gideon et Corper (Harry-J.) (1909). — The purines and purine metabolism of the human foetus and placenta. *Journal of Biol. Chem.*, t. VI, p. 469-482.

168. Wells (H. G.) et Long (E. R.) (1913). — The purines and purine metabolism of tumors and the chemical relations of primary and secondary tumors. *Zeitschr. für Krebsforschung*, vol. XII, p. 598-611.

169. Wiechowski (W.) (1913). — Die Purinstoffe und das Allantoïn in Neubauer-Huppert. *Analyse des Harns*, t. II, p. 904-1079.

170. Zwaardemaker (H.) (1905). — Die physiologische wahrnehmbaren Energiewanderungen. *Ergebnisse der Physiologie*, t. V, p. 423-476.

171. Zwaardemaker (H.) (1906). — Die im ruhenden Körper vorgehenden Energiewanderungen. *Ergebnisse der Physiologie*. Jahrgang 1905, t. V, p. 108-154.

172. Zwaardemaker (H.) (1907). — Die Allgültigkeit des zweiten Hauptsatzes. *Centralblatt für Physiol.*, t. XXI, p. 68-69.

TABLE DES MATIÈRES

Pages.

PUBLICATIONS (1906-1919) de Georges Schaeffer chargé de cours de Physiologie I

INTRODUCTION VII

CHAPITRE PREMIER. — La détermination de la masse protoplasmique active, son importance, tentatives de détermination 1

CHAPITRE II. — Le Rapport Nucléoplasmatique des morphologistes; Origine; Contenu; Applications; Critique 23

CHAPITRE III. — Transport de la notion de Rapport Nucléoplasmatique dans le domaine physiologique; Détermination biochimique. 39

CHAPITRE IV. — Le dosage des aminopurines dans les tissus; étude critique et expérimentale. 47

CHAPITRE V. — Détermination du Rapport Nucléoplasmatique au cours du développement; Choix et récolte des matériaux; Méthodes de dosages; Résultats. 79

CHAPITRE VI. — Utilisation des résultats expérimentaux 136

CHAPITRE VII. — Interprétation des résultats; Problèmes soulevés par la détermination biochimique du Rapport Nucléoplasmatique. 157

CHAPITRE VIII. — Applications de la détermination biochimique du Rapport Nucléoplasmatique; Conclusions 177

BIBLIOGRAPHIE 185

Paris. — Typ. PH. RENOUARD, 19, rue des Saints-Pères. — 56683.